



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

**A bioimpedancia spektroszkópia alkalmazhatósága a növények
nitrogén-ellátottságának megfigyelésére**

Kovács Flórián

Budapest

2026

A doktori iskola

megnevezése: Agrár- és Élelmiszertudományok Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Prof. Dr. Kovács Melinda

egyetemi tanár, az MTA rendes tagja

Témavezetők: Dr. Juhos Katalin

egyetemi docens,

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Budai Campus,

Agrárkörnyezettani Tanszék,

Környezettudományi Intézet

Dr. Vizvári Zoltán

egyetemi adjunktus

Óbudai Egyetem, Neumann János Informatikai Kar

Biomatika és Alkalmazott Mesterséges Intelligencia Intézet

Óbudai Egyetem, Egyetemi Kutató és Innovációs Központ

Bioimpedancia Technológiák Kutatóközpont

.....
Az iskola vezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	6
1.1 A téma aktualitása, jelentősége	6
1.2 Célkitűzések	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
2.1 A nitrogén növényélettani jelentősége	10
2.2 A nitrogén monitorozási módszerei.....	14
2.2.1 Analitikai alapú nitrogén-meghatározási módszerek.....	15
2.2.2 Közvetett, nem destruktív optikai módszerek	16
2.3 Bioimpedancia fogalma és alkalmazási területei a növényélettani kutatásokban..	18
2.3.1 Bioimpedancia fogalma.....	18
2.3.2 Bioimpedancia modellek és azok élettani jelentősége	21
2.3.3 Algoritmusok a bioimpedancia paraméterek kinyerésére.....	23
2.3.4 A bioimpedancia alkalmazása a növényi vízellátottság megfigyelésére	24
2.3.5 A bioimpedancia alkalmazása a tápanyagfelvétel vizsgálatokban, különös tekintettel a növények nitrogénellátottságra	27
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	33
3.1 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása vízhiányos körülmények között	35
3.2 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása az eltérő nitrogén-ellátottsági szintek vizsgálatához.....	36
3.2.1 Eltérő nitrogéndózisok beállítása két fejes saláta fajtában	36
3.2.2 Eltérő nitrogéndózisok beállítása uborkanövényeken üvegházi körülmények között	38
3.3 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása a korai nitrogénhiány felismerésére ..	39
3.4 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása a vízhiány és az eltérő nitrogénformák együttes vizsgálatához	40
3.5 Alkalmazott növényélettani és talajtani vizsgálati módszerek.....	42
3.5.1 Relatív víztartalom (RWC) meghatározása	42
3.5.2 Pigmenttartalom és klorofill-fluoreszcencia meghatározása	43
3.5.3 Összes nitrogén- és nitrát-tartalom meghatározása	44
3.5.4 Apoplasztikus nitrátkoncentráció meghatározása.....	44
3.5.5 Antioxidáns aktivitás és összes polifenol-tartalom meghatározása	45
3.5.6 Membránstabilitási index meghatározása elektrolit-szivárgás alapján.....	45
3.5.7 A növényi biomassa meghatározása	45
3.5.8 A talaj nitrogéntartalmának és pH-értékének meghatározása	46
3.6 Bioimpedancia-spektroszkópiai mérések	46

3.6.1 A bioimpedancia-mérőműszer jellemzése	46
3.6.2 A BIS mérőrendszer validálása Double-Shell fantom segítségével.....	48
3.6.3 Bioimpedancia-mérés beállítása és a növényi sejt elektromos modellje.....	50
3.6.4 Metaheurisztikus optimalizáláson alapuló impedancia-paraméterkivonás	53
3.6.5 Statisztikai kiértékelés	54
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSA	56
4.1 A vízstressz és levélszáradás hatásának vizsgálata bioimpedancia-alapú megközelítéssel.....	56
4.1.1 A vízstressz hatása a növényélettani paraméterekre	56
4.1.2 A vízstressz hatása a bioimpedancia-paraméterekre és modellezésük összehasonlítása.....	57
4.2 A bioimpedancia-paraméterek és növényélettani mutatók alakulása eltérő nitrogén-ellátottsági szintek mellett.....	62
4.2.1 Eltérő nitrogénellátottsági szintek hatása a bioimpedancia- és növényélettani paraméterekre két salátafajtában	62
4.2.2 Eltérő nitrogénellátottsági szintek hatása a bioimpedancia- és növényélettani paraméterekre uborkanövényeken üvegházi körülmények között	74
4.3 Korai nitrogénhiány hatása a bioimpedancia-és növényélettani paraméterekre	79
4.4 Eltérő nitrogénellátottság és szárazságstressz együttes hatása a bioimpedancia- és növényélettani paraméterekre.....	83
4.5 Eredmények összefoglalása	94
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	99
5.1 A módszer korlátai és a jövőbeli kutatási irányok	101
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	103
7. ÖSSZEFOGLALÁS.....	104
8. SUMMARY	106
9. MELLÉKLETEK	108
9.1 M1 (Irodalomjegyzék).....	108
9.2 M2 (Táblázatok)	129
9.3 M3 (Ábrák)	136
NYILATKOZAT	140
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	142

Jelölések, rövidítések jegyzéke

AC: antioxidáns kapacitás

BIS: bioimpedancia spektroszkópia

CCI: klorofilltartalom-index

CI: konfidencia-intervallum

CPE: konstans fáziselem

CTRL: kontroll

DBS: Double Shell sejtmodell

DW: száraz tömeg

FW: friss tömeg

MSI: membránstabilitási index

PPFD: fotoszintetikusan aktív fotonfluxus-sűrűség

PSO- részecskeraj-optimalizálás

RWC: relatív víztartalom

SW: telítési tömeg

TPC: összes polifenol-tartalom

WP: gyapjúpellet

C_m : sejtmembrán kapacitás

C_t : tonoplaszt- (vakuólummembrán-) kapacitás

R_1 : extracelluláris folyadék ellenállás

R_2 : intracelluláris folyadék ellenállás

R_4 : vakuólumfolyadék ellenállás

α : vakuólummembránhoz tartozó exponens-paraméter

β : sejtmembránhoz tartozó exponens-paraméter

1. BEVEZETÉS

1.1 A téma aktualitása, jelentősége

Az intenzív zöldségtermesztésben a nitrogén (N) az egyik legjelentősebb makroelem, ugyanakkor a kijuttatott N-mennyisége gyakran meghaladja a növények valós igényét. Ez nemcsak a költségeket növeli, hanem súlyos környezeti terhelést is jelent, különösen a nitrát (NO_3^-) talajvízbe jutása révén. Ezért a hatékony N-gazdálkodás megvalósításához elengedhetetlen a gyors, megbízható és nem destruktív diagnosztikai módszerek alkalmazása. Bár a hagyományosan alkalmazott klorofillmérők és optikai szenzorok széles körben elterjedtek, működésük erősen függ a környezeti tényezőktől (például a fényviszonyoktól, a levélfelület jellegétől és a viaszréteg vastagságától), és a N-ellátottságot csak közvetetten, a klorofilltartalom alapján becsülik. A hagyományos szenzorok érzékenységi bizonytalanságai miatt szükségessé vált olyan, valós növényélettani folyamatokat feltáró mérési eljárások bevezetése, amelyek képesek a N-hiány, sejtszintű kimutatására.

Egyik ilyen lehetőség a bioimpedancia spektroszkópia (BIS), amely különböző frekvenciatarományokban képes elkülöníteni az apoplastikus (sejten kívüli tér), szimplasztikus (sejten belüli tér) és vakuólum-kompartmentek elektromos tulajdonságait, így olyan paramétereket szolgáltat, mint az extracelluláris ellenállás az intracelluláris ellenállás, a vakuólum-ellenállás és a sejtmembrán kapacitása. Mivel ezek a változók jól jellemzik a sejtek hidratáltságát, ioneloszlását és membránállapotát, ezért elméletileg alkalmasak lehetnek az N-hiány korai detektálására.

A BIS alkalmazása rohamosan terjed a növénykutatásban, elsősorban a növényi szövetek víztartalma és szöveti integritásának vizsgálatára. Ugyanakkor tápanyag-specifikus, különösen N-hiányra vonatkozó diagnosztikai értéke még mindig kevésbé feltárt. A legtöbb tanulmány kizárólag vízstresszre fókuszál, miközben a tápanyaghiány tekintetében a sejtek elektromos választ meghatározó ionkompartmentek, apoplast, citoplazma, vakuólum eltérő szerepe mindmáig jórészt ismeretlen.

Néhány kutatás már bizonyította, hogy N-hiány esetén nő az extracelluláris és intracelluláris ellenállás, miközben csökken a membránkapacitás. Ugyanakkor a jelenlegi szakirodalom nem vizsgálja, hogy ezek a változások mekkora mértékben függnek össze a levél tényleges NO_3^- -tartalmával, különösen az apoplastikus térben. A jelenlegi szakirodalomban mindeddig korlátozott számú vizsgálat foglalkozott azzal, hogy:

- az extracelluláris ellenállás valóban a NO_3^- -ionok apoplaztikus koncentrációját tükrözi-e,
- a vakuólum ellenállás miként kapcsolódik össze a NO_3^- tartalommal,
- illetve, hogy a sejtmembrán-kapacitás milyen mértékben függ össze a sejtek membránkárosodását jellemző membránstabilitási indexszel N-hiány alatt,
- továbbá, hogy N-hiány és vízhiány együttes fennállása esetén ezek a paraméterek miként viselkednek, és milyen mértékben használhatók érzékeny élettani indikátorként.

Ezek mindeddig nyitott kérdések, pedig a NO_3^- a sejtek legfontosabb mobil N-formája, amelynek apoplaszt-szimplast-vakuólum közötti megoszlása alapvetően meghatározza a növény N-forgalmát. A NO_3^- koncentráció gyors változásai különösen érzékenyen módosíthatják a szövetek elektromos tulajdonságait, ennek közvetlen kimutatásával azonban mindmáig csak kevés tanulmány foglalkozik.

A kutatás nehézségei között szerepel, hogy a BIS-paramétereket a szövetek vízellátottságának változásai is jelentősen befolyásolják, így a N- és vízhiány hatásainak elkülönítése a jelenlegi szakirodalomban alig valósult meg. A víztartalom heterogenitása közvetlenül módosítja az ionmozgást és a membránpermeabilitást, ezért a BIS N-diagnosztikai alkalmazása mindaddig nem tekinthető megbízhatónak, amíg ezt a hatást célzottan nem vizsgálják.

E probléma kezeléséhez olyan modellezési megközelítésre van szükség, amely képes a sejten belüli és sejten kívüli elektromos folyamatok elkülönített értelmezésére.

A Double Shell (DBS) sejtmmodell olyan elektromos ekvivalens modell, amely a növényi sejtet egymást körülvevő kompartmentek rendszerként írja le, és lehetővé teszi az apoplaztikus tér, a citoplazma és a vakuólum elektromos tulajdonságainak elkülönített leírását. A modell elméletileg alkalmas ezen kompartmentekhez rendelhető ellenállás- és kapacitásparaméterek meghatározására bioimpedancia spektrumok alapján. A gyakorlatban azonban a DBS-paraméterek becslése erősen függ az alkalmazott illesztési eljárástól: a korábban gyakran használt ZFIT algoritmus, amely egy hagyományos, determinisztikus nemlineáris illesztési módszer, jelentős paraméterszórást mutatott, ami megnehezítette az eredmények biológiai értelmezését. Ez indokolja egy robusztusabb, zajtűrőbb optimalizációs módszer alkalmazását.

A téma jelentőségét tovább növeli, hogy a klímaváltozás következtében egyre fontosabbá válik a víz- és tápanyaghiány összefonódó hatásainak gyors felismerése. A BIS egyedülálló lehetőséget kínál arra, hogy a növények elektrofiziológiai válaszain keresztül új dimenziót nyisson a precíziós N-gazdálkodásban és az *in vivo* diagnosztikában.

Mindazonáltal a jelenlegi szakirodalomban továbbra sem tisztázott, hogy a különböző sejtközi és sejten belüli kompartmentekhez tartozó BIS-paraméterek milyen mértékben és mechanizmusokon keresztül tükrözik a N-ellátottságot. Emellett a vízállapot változásainak zavaró hatása tovább nehezíti a paraméterek egyértelmű élettani értelmezését, ami korlátozza a módszer gyakorlati alkalmazhatóságát.

E hiányosságok szükségessé teszik egy integrált, kísérleti és modellezési megközelítés kidolgozását, amely lehetővé teszi a BIS-spektrumokból származtatott paraméterek növényélettani értelmezésének pontosítását, valamint azok kapcsolatának feltárását a növények N-ellátottságával.

1.2 Célkitűzések

A fentiekben bemutatott szakirodalmi eredmények és módszertani hiányosságok alapján kutatásom célja egy olyan minimálisan invazív, *in vivo* diagnosztikai megközelítés kidolgozása volt, amely a bioimpedancia spektroszkópia (BIS) és egy továbbfejlesztett, illesztési szempontból optimalizált impedanciamodellezési eljárás kombinációjával képes feltárni a növények N-ellátottságához kapcsolódó sejtszintű elektromos változásokat, valamint meghatározni a BIS-paraméterek és a kulcsfontosságú növényélettani állapotmutatók közötti összefüggéseket.

Kutatásom alaphipotézise az volt, hogy a BIS-sel meghatározott, sejtkompartment-specifikus elektromos paraméterek szoros és kvantitatív összefüggést mutatnak a növények N-ellátottságával, különösen a NO_3^- -ionok sejten belüli és sejten kívüli eloszlásával.

A kutatás során az alábbi célkitűzéseket fogalmaztam meg:

1. Olyan bioimpedancia-spektroszkópiái (BIS) mérési protokoll kidolgozása és validálása, amely alkalmas a növényi N-állapot gyors, minimálisan invazív vizsgálatára.
2. Az extracelluláris NO_3^- tartalom és extracelluláris folyadék ellenállás közötti kapcsolat vizsgálata és kvantitatív jellemzése.
3. Az extracelluláris, intracelluláris és vakuólum-kompartmentekhez tartozó ellenállásparámeterek változásainak elemzése különböző nitrogénellátottsági szintek mellett.
4. A sejtmembrán kapacitás változásainak vizsgálata különböző nitrogénellátottsági feltételek mellett, valamint annak értelmezése a membránállapot szempontjából.

5. A BIS-paraméterek és a klasszikus növényélettani mutatók (NO_3^- -tartalom, összes nitrogéntartalom, klorofilltartalom, relatív víztartalom) közötti összefüggések feltárása a módszer élettani értelmezésének és diagnosztikai potenciáljának alátámasztására.
6. A BIS módszer alkalmasságának vizsgálata a korai N-hiány kimutatására, valamint a vízállapot és a N-ellátottság együttes hatásainak értékelése a BIS-paraméterek változásán keresztül.

Mindezek mellett, a hagyományosan alkalmazott analitikai és optikai módszerekkel (összes N-tartalom, NO_3^- -meghatározás, klorofill tartalom) összevetve, a növényélettani kutatásokban új, fizikai alapú megközelítésként a váltakozó áramú BIS-mérések alkalmazását is célul tűztem ki. A mérési rendszer fejlesztése során négyelektrodás elrendezést alkalmaztam, amely minimálisan invazív, *in vivo* növénymérést tett lehetővé, ezáltal kiküszöbölve az elektróda kontaktus hatásokat és javítva a mérési pontosságot.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A nitrogén növényélettani jelentősége

A nitrogén (N) a növények számára az egyik legfontosabb makrotápanyag, amely alapvető szerepet játszik az anyagcserében és a biomassza-termelésben, mivel kulcsfontosságú alkotóeleme az aminosavaknak és fehérjéknek, valamint nélkülözhetetlen a klorofill bioszintéziséhez, továbbá a nukleinsavak, a membránok és a sejtfalak felépítéséhez (Foyer és Zhang, 2010; Mu és Chen, 2021).

A növények a N-t szervetlen és szerves formákban egyaránt képesek felvenni (Muratore et al. 2021), azonban a felvétel döntően ammónium (NH_4^+) és nitrát (NO_3^-) formájában történik. Ezek közül a NO_3^- a legnagyobb mennyiségben előforduló és legszélesebb körben felvett szervetlen N-forma a talajokban, különösen aerob körülmények között (O'Brien et al. 2016). Ezzel szemben az NH_4^+ savanyúbb talajokban és anaerob környezetekben válik dominánssá. Mindkét forma eltérő hatást gyakorol a növényi anyagcserére és a sejtek pH-szabályozására (O'Brien et al. 2016; Li et al. 2024).

A N felvétele a növényekben energiaigényes folyamat, amely a gyökérrendszer morfológiai jellemzőitől, a talajban rendelkezésre álló különböző N-formák hozzáférhetőségétől, valamint számos környezeti tényezőtől függ (Li et al. 2013; Hu et al. 2014). A NO_3^- és az NH_4^+ mellett a növények kisebb mennyiségben szerves N-forrásokat is képesek hasznosítani, például aminosavakat és amidokat (Lea és Mifflin, 2010; Li et al. 2013; O'Brien et al. 2016; Rashid et al. 2022).

A különböző N-formák felvétele és anyagcseréje nemcsak a tápanyagellátottságot befolyásolja, hanem alapvetően meghatározza a növények élettani válaszait és stressztűrő képességét is (Britto és Kronzucker, 2002; Li et al. 2022, 2024). Ezeket a folyamatokat specifikus transzporter-családok szabályozzák (Morales de Los Ríos et al. 2025), amelyek a N felvételét és sejten belüli eloszlását irányítják. Emellett a rizoszféra mikrobiomja és a mikorrhiza szimbiózisok jelentős mértékben befolyásolják a talajban található N-formák hozzáférhetőségét és átalakulását, ezáltal hatva az összesített N-felvételre és -hasznosításra (Tegeder és Masclaux-Daubresse, 2018).

A NO_3^- felvétele a növényekben protonkapcsolt transzportrendszereken keresztül történhet, és a NO_3^- táplálásban részt vevő transzporterek jelentős része az NRT1/PTR Család (NPF) családba tartozik (Morales de Los Ríos et al. 2025). E családon belül az AtNPF6.3 (korábban AtNRT1.1/CHL1) az NPF6 klád központi és széles körben tanulmányozott tagja. Kimutatták,

hogy a NO_3^- transzportját széles külső koncentráció-tartományban képes közvetíteni, és a T101 pozíción történő foszforiláció-alapú szabályozást (CIPK23 közvetítésével) egy látszólagos affinitásváltás mechanizmusaként javasolták. Ez az affinitásváltás azonban továbbra is vitatott, mivel a T101 foszforiláció nem változtatja meg a NO_3^- kötési affinitását (KD), és a magas affinitású viselkedés megjelenése erősen függ a kísérleti beállítástól. Továbbá a leírt kettős affinitású viselkedés abból is adódhat, hogy a felvételi sebességeket két külön Michaelis-Menten egyenlettel illesztették, miközben kimutatták, hogy egyetlen Michaelis-Menten modell biztosítja a legjobb illeszkedést a publikált adatsorokra. A transzportfunkción túl az AtNPF6.3 jól megalapozott jelátviteli szereppel is rendelkezik, ezért gyakran NO_3^- transzceptorként írják le (Ho et al. 2009; Morales de Los Ríos et al. 2025).

Miután a NO_3^- belép a gyökérbe, egy része helyben asszimilálódik, míg egy másik része a xilémen keresztül a hajtásba szállítódik. A NO_3^- asszimilációja többlépcsős folyamat: a NO_3^- NO_2^- -rá történő redukciója a nitrát-reduktáz (NR) által a citoszolban zajlik, míg az ezt követő $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_4^+$ redukciót a nitrit-reduktáz (NiR) a plasztiszokban végzi. A keletkező NH_4^+ ezt követően a GS/GOGAT cikluson keresztül aminosavakba épül be, amely teljes egészében a plasztiszokban lokalizálódhat, vagy megoszlik a plasztiszok és a citoszol között. A xilém NO_3^- -betöltésében és kiürítésében részt vevő transzporterek kulcsszerepet játszanak a gyökér és hajtás közötti NO_3^- transzlokáció szabályozásában, közvetítve mind a NO_3^- xilémbe történő effluxát, mind annak visszavételét a gyökérbe (Nikolic et al. 2012; Morales de Los Ríos et al. 2025).

Miután a NO_3^- eléri a leveleket, először az apoplasztba jut, ahonnan a szimplasztba történő felvétele a plazmamembrán H^+ -ATPáz által létrehozott protongrádiens hatására történik. Nikolic et al. (2012) uborkalevél-korongokon kimutatták, hogy ez az indukálható, telíthető levél- NO_3^- felvétel fényfüggő és pH-érzékeny (optimális pH 5,5–6,5), és hogy a H^+ -ATPáz aktivitásának gátlása drasztikusan csökkenti a NO_3^- felvételt. Az indukció korai szakaszában az apoplaszt NO_3^- koncentrációja gyorsan növekszik, majd a szimplasztikus felvétel fokozódásával csökken, ami arra utal, hogy az apoplaszt puffer- és elosztó kompartmentként működik a levél N-ellátásában.

A NO_3^- asszimilációja szorosan kapcsolódik a fotoszintézishez, mivel a redukciós lépésekhez energiára és redukáló anyagokra, valamint a N beépüléséhez szükséges szénvázakra van szükség. A NR aktivitása napi ritmust mutat: nappal magasabb, éjszaka alacsonyabb. Ez az

ingadozás összefügg a fény által meghatározott redoxállapottal és a fotoszintézis során keletkező szénvegyületek áramlásával (Nikolic et al. 2012).

A gyökerekben az asszimilált NO_3^- főként aminosavakká (glutamin és aszparagin) alakul, amelyek ezt követően a floémon keresztül a fiatal hajtásokba és a fejlődő szervekbe szállítódnak (Tegeder és Masclaux-Daubresse, 2018). A levelekben a NO_3^- jelentős része a vakuólumokban raktározódik (Crawford és Glass, 1998). Ez a raktárkészlet ozmoregulációs és pufferező funkcióval is rendelkezik: nappal az NR és NiR aktivitása kiüríti a vakuólumkészleteket, míg éjszaka azok újratöltődnek.

A szeneszcencia során a levélfehérjék N-tartalma remobilizálódik, és a magokba vagy fiatal szövetekbe szállítódik. A tonoplaston az AtCLCa NO_3^-/H^+ antiporter közvetíti a vakuólumbeli tárolást, amely stabilizálja a citoszolikus NO_3^- szintet és a sejt pH-ját (Tegeder és Masclaux-Daubresse, 2018).

A NO_3^- levélen belüli mozgása három összehangolt folyamaton keresztül zajlik:

- i) az extracelluláris folyadéktérben,
- ii) az intracelluláris folyadéktérben (H^+ -ATPáz által hajtott felvétel NO_3^- transzportereken, beleértve az NPF család tagjait, valamint asszimiláció az NR/NiR útvonalon), és
- iii) a vakuólumban (NO_3^- tárolás és ozmoreguláció).

Nikolic et al. (2012) szerint az extracelluláris NO_3^- koncentráció csúcsa megelőzi az intracelluláris felvétel és a H^+ -ATPáz-aktiváció maximumát, ami arra utal, hogy az extracelluláris tér rövid távú „pufferként” működik, amely segít kiegyenlíteni a NO_3^- szinteket a fény-, pH- és transzspirációs feltételek változásai mellett.

Az NH_4^+ felvétele elsősorban az AMT1 és AMT2 transzporterfehérjéken keresztül történik, amelyek nagy affinitású rendszert alkotnak (Yuan et al. 2007). Bár az NH_4^+ közvetlen beépülése a sejtekbe energiahatékonyabb, mint a NO_3^- asszimilációja, az NH_4^+ sejten belüli felhalmozódása toxikus lehet, mivel megzavarja a pH- és ioneqyensúlyt (Britto és Kronzucker, 2002). Ennek elkerülése érdekében az NH_4^+ gyorsan szerves vegyületekbe épül be, elsősorban a glutamin-szintetáz/glutamát-szintetáz (GS/GOGAT) cikluson keresztül (Lea és Azevedo, 2006). Alacsony affinitású NH_4^+ transzport akvaporinokon és nem szelektív kationcsatornákon keresztül is megvalósulhat. Az AMT transzporterek aktivitása foszforilációval (például

CIPK23 által) gyorsan lekapcsolható, és szorosan összefügg a K^+ -homeosztázissal, valamint az apoplaszt savanyításával (Tegeder és Masclaux-Daubresse, 2018).

A magvas növényekben a glutamin-szintetáz (GSIIe) három filogenetikai csoportban fordul elő (GS1a, GS1b és plasztidikus GS2). A GS2 koncentrációja jelentősen magasabb a fotoszintetikus szövetekben (például a levél mezofillumában), ahol újraasszimilálja a NO_3^- redukciójából és a fotorespirációból származó NH_4^+ , míg a citoszolikus GS1 izoenzimek a növény különböző szerveiben vannak jelen, és hozzájárulnak az elsődleges N-asszimilációhoz (különösen a gyökérben), valamint a N remobilizációjához és transzlokációjához a hajtásban. A GS1b jellemzően többgénes családot alkot, szervfüggő funkciókkal, míg a GS1a (amely a nyitvatermőkben és egyes bazális zárvatermőkben található meg) funkcionálisan átfedhet a GS2-vel a fotoszintetikus sejtekben (Valderrama-Martín et al. 2022).

A NO_3^- és az NH_4^+ közötti arány erőteljesen meghatározza a növények N-hasznosítási hatékonyságát (NUE). A kiegyensúlyozott $NO_3^-:NH_4^+$ arány támogatja a sejtek pH-homeosztázisát, optimalizálja a fotoszintézist és az ionegyensúlyt, míg a túlzott NH_4^+ -ellátás savanyodáshoz, ozmotikus stresszhez és membránkárosodáshoz vezethet (Hachiya és Sakakibara, 2017). Sok levélzöldség esetében a mérsékelt ammóniumarány (a teljes N 20-40%-a) általában kedvező, míg a magas (>40-50%) NH_4^+ arány gyakran toxikus tüneteket és terméseszkökenést okoz.

Összességében a NO_3^- és NH_4^+ formák közötti dinamikus egyensúly, valamint a transzporterek, enzimek és jelátviteli hálózatok összehangolt működése határozza meg a növények N-hasznosítási hatékonyságát.

A N-ellátottság zavara, legyen szó hiányról vagy túlzott felvételtől, számos jól definiálható növényélettani változással jár együtt. A N-hiány a legtöbb növénynél a növekedés visszafogásával, a klorózis megjelenésével, a klorofilltartalom csökkenésével és az F_v/F_m arány mérséklődésével jár, ahol az F_v/F_m a PSII rendszer maximális kvantumhatásfokát jellemző fluoreszcencia-paraméter (Ji-Yong et al. 2012; Zhang et al. 2016). A fotoszintetikus aktivitás és a CO_2 -asszimiláció csökkenése összefüggésbe hozható a RuBisCO és a kloroplasztisz-fehérjék szintézisének gátlásával, valamint a sztómakonduktancia csökkenésével (Lu et al. 2001). A N-hiány emellett fokozza az oxidatív stressz kialakulását: csökken az aszkorbát-peroxidáz és glutation-reduktáz aktivitása, miközben nő a reaktív oxigénformák (ROS) felhalmozódása és a levelek abszcizinsav-tartalma (Gaude et al. 2007; Richard-Molard et al. 2008; Wang és Shen, 2011; Schlüter et al. 2012; Xu et al. 2001, 2012;

O'Brien et al. 2016). Az anyagcsere szintjén csökken az aminosav- és fehérjeszintézis, míg a szénhidrátok, különösen a keményítő felhalmozódása növekszik (Schlüter et al. 2012). Hosszabb távon a N-hiány a tápanyag-remobilizáció fokozódásához vezet, ami elsősorban az alsó levelekből történik a fiatal levelek irányába (Vouillot és Devienne-Barret, 1999; Zhao et al. 2005).

A N-túladagolás szintén kedvezőtlen élettani hatásokat eredményezhet. A túlzott N-ellátás fokozza a vegetatív növekedést, de csökkenti a generatív szervek fejlődését, és növeli a megdőlés, valamint a kórokozók iránti érzékenységet (Weinbaum et al. 2018). A luxusfelhalmozás következtében a növény szövetében a fehérjetartalom nő, miközben a szénhidrátok aránya csökken (Van Herwaarden et al. 1998). Levélzöldségeknél a NO_3^- -tartalom felhalmozódása különösen kockázatos, mivel a NR fényfüggő aktivitása miatt a váltakozó nappali-éjszakai ciklus során jelentős mennyiségű nitrát maradhat a vakuólumokban, ami humán egészségügyi kockázatot jelent (Gent, 2012; Boros et al. 2020). Emellett a N-túladagolás csökkentheti a növények másodlagos metabolitjainak, például polifenolok és antioxidáns vegyületek mennyiségét, ami rontja a termés minőségét (Fernández-Escobar et al. 2006).

Összességében a N-ellátottság egyensúlya alapvető a növények optimális növekedése, a fotoszintetikus hatékonyság és a stressztűrés fenntartása szempontjából. Mind a hiány, mind a túladagolás jelentős élettani és biokémiai eltolódásokat okoz, amelyek befolyásolják a növények terméshozamát, minőségét és a környezetre gyakorolt N terhelést.

2.2 A nitrogén monitorozási módszerei

A növényi N-ellátottság meghatározása a növényélettani és agronómiai kutatások egyik központi kérdése, mivel a N a legnagyobb mennyiségben előforduló nélkülözhetetlen makroelem, amely alapvetően meghatározza a növények fotoszintetikus aktivitását, anyagcseréjét és terméspotenciálját (Muñoz-Huerta et al. 2014).

A levelek N tartalma szoros kapcsolatban áll a klorofill-tartalommal, a fotoszintézis intenzitásával és a biomassza mennyiségével (Zotarelli et al. 2007; Muñoz-Huerta et al. 2014; Gao et al. 2023; Lal et al. 2023). A növényi N-ellátottság pontos és időben történő meghatározása elengedhetetlen a N-hasznosítási hatékonyság (NUE) javításához és a túl trágyázásból eredő környezeti terhelés csökkentéséhez (Berger et al. 2020). A NUE a felvett és beépített N arányát jelenti, amely kulcsszerepet játszik a fenntartható mezőgazdaságban (Berger et al. 2020).

A N tartalom becslésére számos módszer terjedt el, amelyek közül megkülönböztethetők a közvetlen (destruktív) és a közvetett (nem destruktív) módszerek (Zotarelli et al. 2007; Muñoz-Huerta et al. 2014).

Ugyanakkor az elmúlt években a fotoszintézis közvetlen nyomon követését lehetővé tevő, műholdas és UAV-alapú SIF (napfény által kiváltott klorofillfluoreszcencia) adatok bevonása a N-diagnosztikába jelentős előrelépést hozott a térbeli és időbeli érzékenység terén. A módszer különösen hatékony, ha NDRE (Normalized Difference Red Edge Index) vagy NBI (Nitrogen Balance Index) alapú vegetációs indexekkel, valamint terepi kalibrációval együtt alkalmazzuk.

2.2.1 Analitikai alapú nitrogén-meghatározási módszerek

Az analitikai alapú N-meghatározási módszerek a növényi szövetek tényleges N-tartalmát mérik kémiai vagy fizikai módszerekkel (Muñoz-Huerta et al. 2014). A legismertebb eljárások közé tartozik a Kjeldahl-féle N-meghatározás, amely során a szerves N savas emésztését követően NH_4^+ ionná alakítják, majd titrimetriásan határozzák meg (Nelson és Sommers, 1980). A módszer előnye a magas pontosság és reprodukálhatóság, ugyanakkor idő- és munkaigényes, veszélyes vegyszereket igényel, és nem méri közvetlenül a NO_3^- - és NO_2^- formákat, így csak a teljes N-tartalom határozható meg belőle.

A Dumas-módszer teljes égésen alapul, amely során a mintában lévő N nitrogéngázzá alakítják, majd gázanalitikai úton mérik annak koncentrációját. A Dumas-módszer gyorsabb, automatizálható, de a berendezés magas költsége és a minták laboratóriumi előkészítése korlátozza a terepi alkalmazhatóságát (Nelson és Sommers, 1980; Chang és Robison, 2003; Saint-Denis és Goupy, 2004; Padilla et al. 2016).

Az utóbbi évtizedekben megjelentek olyan spektroszkópiai eljárások, mint a közeli infravörös spektroszkópia (NIR), amelyek a minta abszorpciós spektrumát elemzik, és az abból számított korrelációs modellek alapján becsülik meg a N-tartalmat (Liang et al. 2018). Emellett egyre inkább előtérbe kerülnek a Fourier-transzformált infravörös spektroszkópia (FTIR) és Raman-spektroszkópia alapú módszerek, amelyek lehetővé teszik a szöveti N-összetevők részletes vizsgálatát, különösen heterogén minták esetén (Padilla et al. 2018; Losacco et al. 2022). A NIR-mérések előnye a gyorsaság és a minták előkészítésének egyszerűsége, azonban a módszer pontossága nagymértékben függ a kalibrációs görbék minőségétől, valamint a növényfaj, víztartalom és sejtszerkezet variabilitásától (Liang et al. 2018). A NIR-tartományban a fehérjékhez/N-hez rendelt abszorpciós sávok (pl. ~1510–1520, 1690, 1940,

2060-2350 nm) több más komponens (víz, lignin, cellulóz, keményítő) abszorpcióival is átfedhetnek, ezért a spektrális szétválasztás és a víztartalom jelentősége kritikus a megbízható N-bebecsléshez (Berger et al. 2020). Bár ezek a módszerek pontosak, alkalmazásuk korlátozott a költség és a mintavételi destrukció miatt, ezért a kutatás súlypontja egyre inkább a nem destruktív technikák felé tolódott el (Ji-Yong et al. 2012; Zotarelli et al. 2007).

Továbbá az utóbbi időkben a lézer-indukált plazma spektroszkópia (LIBS) is egyre nagyobb figyelmet kapott a növényi minták N-meghatározásában. A technika a laboratóriumi környezetből fokozatosan terepi alkalmazások felé mozdult el: „single-shot” mérésekkel már *in situ*, gyakorlatilag roncsolásmentes N-bebecslést mutattak be levélmintákon (pl. friss saláta), ami gépi tanulási algoritmusokkal kombinálva nagy pontosságot eredményezett (Hossen et al. 2021).

2.2.2 Közvetett, nem destruktív optikai módszerek

A növényi N-tartalom gyors és nem destruktív meghatározására a legelterjedtebb módszerek közé tartozik az optikai alapú eljárások csoportja, amelyek a levelek vagy a növényállomány fényvisszaverési, áteresztési és fluoreszcencia tulajdonságain alapulnak (Homolová et al. 2013; Gholizadeh et al. 2017). Ezen technikák közös jellemzője, hogy a N közvetlen meghatározása helyett a klorofilltartalommal korreláló paramétereket mérnek, tekintettel arra, hogy a klorofillmolekulák jelentős mennyiségű N tartalmaznak (Riccardi et al. 2014; Berger et al. 2020).

A legelterjedtebb hordozható eszközök közé tartozik a SPAD (Soil and Plant Analysis Development) klorofillmérő, amely a levél zöld színintenzitását (abszorbanciáját) méri két hullámhosszon (általában 650 és 940 nm között), és a kapott értéket empirikus összefüggés alapján a levél N-tartalmával korrelál (Padilla et al. 2016, 2018). A SPAD-mérő eszköz gyors és nem invazív, azonban méréseit számos tényező befolyásolhatja, például a levélvastagság, a fajspecifikus optikai tulajdonságok, a talajnedvesség és a fényintenzitás (Xiong et al. 2015). Emellett a módszer nem lineáris kapcsolatot mutat a tényleges levél N-tartalommal, így az eredmények csak fajonként és fejlődési szakaszonként kalibrálva értelmezhetők (Berger et al. 2020).

A távérzékeléses technikák, mint a hiperspektrális képalkotás és az NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) szintén széles körben alkalmazott nem destruktív módszerek a N állapot bebecslésére (Gitelson et al. 2002; Padilla et al. 2018). A hiperspektrális mérések több

száz, keskeny spektrális sávban rögzítik a levél vagy a növényállomány reflexiós tulajdonságait, így lehetővé teszik a N- és klorofilltartalommal kapcsolatos spektrális jellemzők pontosabb kimutatását (Cabrera-Bosquet et al. 2009; Liang et al. 2018; Luo et al. 2016). Az NDVI az infravörös és a vörös hullámhosszak arányából számított vegetációs index, amely a növényzeti borítottság és fotoszintetikus aktivitás indirekt jellemzőjeként értelmezhető (Ramoelo and Cho, 2018). A különböző spektrális indexek, például az N-PROSAIL modellből származtatott paraméterek, lehetővé teszik a lombkorona szintű N-eloszlás térképezését (Gitelson et al. 2002; Padilla et al. 2018). A hiperspektrális rendszerek fő korlátai a költség és a komplex adatmenedzsment: nagy érzékenységgű detektorok, gyors számítási háttér és jelentős tárhelykapacitás szükséges, miközben a környezeti érzékenység (talaj, fényviszonyok, lombkorona, vegetáció) torzíthatja az N-bebecslést (Berger et al. 2020). Ugyanakkor a precíziós mezőgazdaságban az UAV/szatellit platformok (pl. multispektrális és hiperspektrális szenzorok) egyre fontosabb szerepet töltenek be a helyspecifikus N-menedzsment támogatásában. A lombkorona-szintű biomassza és N-mennyiség UAV-alapú bebecslésére több kultúrában sikeresen mutatták be alkalmazhatóságot (Berger et al. 2020).

További modern megközelítések közé tartozik az RGB-alapú képelemzés és a gépi tanulás alkalmazása, amelyek a levélszín (pl. Dark Green Color Index, DGCI) és a klorofilltartalom között fennálló kapcsolatot használják a N-állapot bebecslésére (Riccardi et al. 2014). Újabban az ún. multispektrális strukturált fény-elemzési (structured light imaging) módszereket alkalmaztak, amelyek a levél felszíni struktúráinak változásán keresztül próbálják követni a tápanyag-ellátottság dinamikáját (Nguyen et al. 2015). A mesterséges neurális hálózatokon (ANN) és regressziós modelleken alapuló algoritmusok (Kaul et al. 2005) képesek növelni a bebecslés pontosságát, azonban a környezeti tényezők, mint például fényviszonyok, levegő páratartalma, talajreflexió jelentősen befolyásolhatják az eredményeket (Sun et al. 2017).

A fenti optikai módszerek előnye, hogy gyorsak, nem destruktívak és terepi alkalmazásra is alkalmasak, azonban közös korlátjuk a környezeti érzékenység, a fajspecifikus kalibrációs igény és a nemlineáris kapcsolat a tényleges N-tartalommal (Muñoz-Huerta et al. 2014; Berger et al. 2020). Ugyanakkor az utóbbi években megjelentek olyan kézi, hordozható multispektrális eszközök, amelyek faj- és kultúraspecifikus modellek segítségével közvetlenül a terepen körülmények között is képesek bebecsülni a levél N-koncentrációját. Ezek az eszközök átmenetet képeznek a hagyományos SPAD/NBI mérések és a bonyolultabb hiperspektrális rendszerek között (Jiang et al. 2021; Karaca et al. 2023; Yu et al. 2024).

A fotoszintézishez közvetlenül kapcsolódó SIF (solar-induced chlorophyll fluorescence)-alapú módszerek lombkorona-szinten is érzékenyen jelzik a növények N-állapotát. A nagy felbontású műholdas adatok lehetővé teszik a finomléptékű monitorozást, különösen stresszhelyzetekben (pl. szárazság). A hiperspektrális távérzékelés pontosságát tovább növelhetik a gépi tanulási algoritmusok (pl. RF, XGBoost), különösen akkor, ha a Sentinel-2 red-edge sávjait is bevonják a modellezésbe (Yin et al. 2023; Xu et al. 2024).

Továbbá a fent tárgyalt módszerek mellett egyre inkább előtérbe kerül a bioimpedancia spektroszkópia (BIS), amely a növényi szövetek elektromos ellenállásának és kapacitásának mérésén alapul (Prasad és Roy, 2020). Mivel ezek a paraméterek érzékenyek a sejtszerkezetre, a víztartalomra és az ionkoncentrációra (Ando et al. 2014; Jinyang et al. 2016; Meiqing et al. 2016; Li et al. 2017; Serrano-Finetti et al. 2023), a BIS közvetlenül alkalmas lehet a levél N-koncentrációjának kimutatására (Muñoz-Huerta et al. 2014; Li et al. 2017; Basak et al. 2020a). A módszer előnye, hogy gyors, nem destruktív és jól kombinálható optikai technikákkal. Ugyanakkor az irodalmi hivatkozások száma jelenleg korlátozott, különösen a tápanyagok, ezen belül a N kimutatásának területén.

2.3 Bioimpedancia fogalma és alkalmazási területei a növényélettani kutatásokban

2.3.1 Bioimpedancia fogalma

A bioimpedancia (Z , Ω) a feszültség és az áramerősség hányadosaként értelmezhető komplex fizikai mennyiség, amely a szövet elektromos ellenállási és kapacitív tulajdonságait írja le (Jinyang et al. 2016; Meiqing et al. 2016; Li et al. 2017). Váltakozó áram (AC) esetén a feszültség és az áram időben szinuszosan változik, az alábbiak szerint (Liu et al. 2021):

$$U(t) = U_0 \sin(\omega t) \quad (1)$$

$$I(t) = I_0 \sin(\omega t + \phi) \quad (2)$$

ahol $\omega = 2\pi f$ a körfrekvencia, f a frekvencia (Hz), t az idő, és ϕ a fázisszög, amely a feszültség és az áram közötti eltolást fejezi ki.

Ebből az impedancia komplex alakban adható meg:

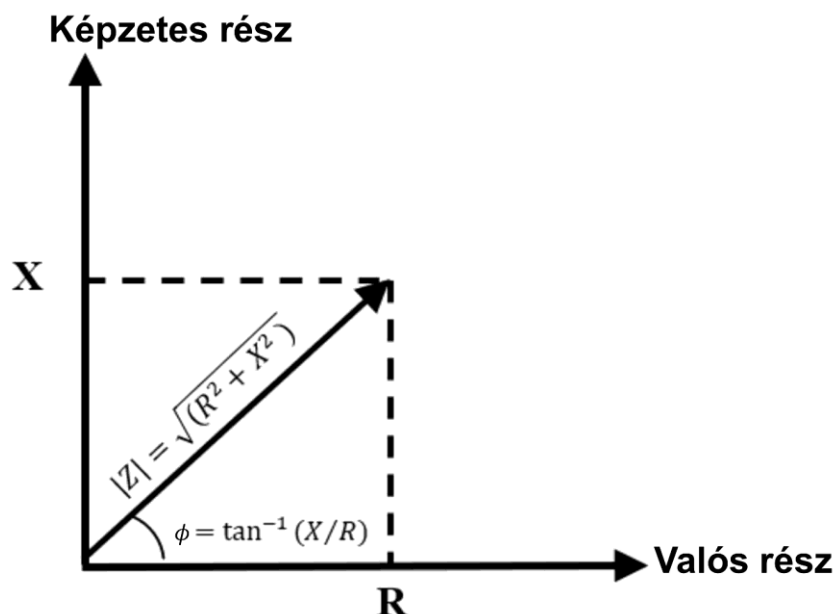
$$Z(j\omega) = \frac{U(t)}{I(t)} = \frac{U_0}{I_0} e^{j\phi} = Z_0(\omega) e^{j\phi(\omega)} = R(\omega) + jX(\omega) \quad (3)$$

Ahol $Z_0(\omega)$ a komplex impedancia abszolútértéke, $R(\omega) = Z_0(\omega) \cos(\phi(\omega))$ az ohmos (rezisztív) komponens, $X(\omega) = Z_0(\omega) \sin(\phi(\omega))$ pedig a kapacitív reaktancia, $j = \sqrt{-1}$

pedig az imaginárius egység. Az impedancia abszolút értéke a rezisztív és kapacitív komponensek négyzetösszegéből számolható ki az alábbiak szerint (**1. ábra**):

$$Z_0(\omega) = \sqrt{(R^2 + X^2)} \quad (4)$$

Ez a mennyiség az adott szövet teljes elektromos ellenállását fejezi ki a váltakozó árammal szemben, és frekvenciafüggése alapján információt ad a szövet ionvezető és kapacitív tulajdonságairól (Liu et al. 2021).



1. ábra: A komplex impedancia vektordiagramja (Z - impedancia nagysága vagy abszolút értéke; R - valós rész; X - képzetes rész; ϕ - fázisszög).

A növényi szövetek elektromos vezetőképessége elsősorban az ionok jelenlétének és mozgékonyságának köszönhető (Prasad és Roy, 2020). A szöveten belüli elektromos áram két fő sejtközi térben terjed: az apoplastban (a sejtfal és sejtközi járatok rendszere), valamint a szimplasztban (a sejtek belső, plazmamembránnal határolt területe). Mindkét tér alapvetően ohmos ellenállással jellemezhető, azonban a kettő között elhelyezkedő sejtmembrán speciális elektromos tulajdonságokkal bír: az elektromos tér hatására polarizálódik és kapacitásként viselkedik (Zhou et al. 2025). A növényi szövetek elektromos tulajdonságait tehát a sejtalkotók és a sejtszerkezet határozza meg, ezért amennyiben két szöveti struktúra különbözik egymástól (pl. sejtfalvastagság, víztartalom, ioneloszlás), ez az eltérés az impedancia spektrumban is jellegzetes formában megjelenik (Serrano-Finetti et al. 2023).

A biológiai szövetek elektromos impedanciájának összetevőit a szövet különböző komponenseinek (vezető oldatok, membránok, sejtfalak) ellenállása és kapacitása határozza

meg (Jócsák et al. 2019). A sejtmembrán elektromos szempontból egy kondenzátorhoz hasonlítható, amely viszonylag nagy átvezetési ellenállással rendelkezik, és kapacitása frekvenciafüggő (Zhang et al. 1992, 2024). Alacsony frekvencián a váltakozó áram elsősorban az apoplasztikus (extracelluláris) téren halad, mivel a sejtmembrán nagy kapacitása megakadályozza az áram áthatolását a sejt belsejébe. Ilyenkor a membrán szinte szigetelőként viselkedik, így a sejten belüli ionos közeg (citoplazma) gyakorlatilag kizárásra kerül a vezetésből (Jamaludin et al. 2015; Jócsák et al. 2019; Basak et al. 2020a;). A frekvencia növelésével azonban a membrán kapacitív reaktanciája csökken, és magasabb frekvenciákon a membrán ellenállása gyakorlatilag elértéktelenedik. Ekkor az áram két, egymással párhuzamos úton halad: a sejtek közötti apoplasztban és a sejten belüli szimplasztban, ami alacsonyabb összimpedanciát eredményez (Jinyang et al. 2016; Meiqing et al. 2016; Li et al. 2017).

Az élő szövetek impedancia spektruma széles frekvenciatartományban ($1\text{ Hz} - 10^{12}\text{ Hz}$) értelmezhető, és négy jellegzetes diszperziós sávot tartalmaz (Grimnes és Martinsen, 2005):

- Az α -sáv ($1\text{ Hz} - \text{néhány kHz}$) a membránfelület mentén mozgó ellenionokhoz, aktív membránhatásokhoz, ioncsatornák működéséhez és diffúziós folyamatokhoz köthető (Nouaze et al. 2022).
- A β -sáv ($10\text{ Hz} - 1\text{ MHz}$) a sejtmembránok polarizálhatóságát és integritását jellemzi, és a növényi szövetek BIS-méréseiben ez a leginkább diagnosztikus tartomány (Grimnes és Martinsen, 2005).
- A γ - és δ -sávok (MHz-GHz tartományban) elsősorban molekuláris dipólusok rezgéséhez és vízmolekulák dielektromos válaszához kapcsolódnak, és az élő növényi szövetek vizsgálatában ritkán használatosak (Bart et al. 2005).

E sávok közül tehát a β -diszperziós tartomány hordozza a legtöbb élettani információt a növényi szövetekről, mivel közvetlenül tükrözi a sejtmembrán állapotát, víztartalmát és ioneloszlását, amelyek kulcsszerepet játszanak a stresszválaszok, a tápanyaghiány és a membránkárosodás felismerésében (Ando et al. 2014; Jinyang et al. 2016; Meiqing et al. 2016; Li et al. 2017; Serrano-Finetti et al. 2023).

Az élő növényi szövetek impedanciája a frekvencia növekedésével általában csökkenő tendenciát mutat, miközben a fázisszög értéke változik a különböző frekvenciatartományokban. Ez a viselkedés arra utal, hogy a sejtek egyes komponensei, mint például a membránszerkezetek és makromolekuláris rendszerek nem képesek minden

frekvencián az elektromos tér változását követni, vagyis a polarizáció sebessége korlátozott (Zhang és Willison, 1993; Koklu et al. 2016; Zhang et al. 2022).

Az α -tartományban a korlátozó tényező az ionok diffúziós és mozgási sebessége, a β -tartományban a membránok polarizálhatósága, míg a γ - és δ -tartományban a vízmolekulák és makromolekulák dipólusos relaxációjának megszűnése jelenti (Prasad és Roy, 2020).

Az impedancia frekvenciafüggése tehát a sejtszintű elektromos válaszok dinamikáját tükrözi. Alacsony frekvenciákon a membrán kapacitív viselkedése határozza meg a vezetési útvonalat, míg magasabb frekvenciákon a citoplazmatikus vezetőképesség válik dominánssá. Jellemző, hogy a intracelluláris tér elektromos ellenállása körülbelül egy nagyságrenddel alacsonyabb, mint az apoplaszté, míg a sejtmembráné nagyjából egy nagyságrenddel magasabb (Grimnes és Martinsen, 2005).

A mért impedanciaspektrum nem kizárólag a vizsgált szövet saját jellemzőit tükrözi, hanem tartalmazza az elektródák, illetve az elektródák közötti sérült szövetrészek hozzájárulását is. Ennek oka, hogy a méréshez alkalmazott tű- vagy síkelektrodok a szövetbe hatolva gyakran sejtkárosodást idéznek elő. A kontakt-impedancia és az elektródpolarizáció hatása elsősorban az alacsony frekvenciatartományban válik jelentőssé. Ezek mérséklésére többféle megoldás létezik: megfelelő elektródanyag és -geometria megválasztása (például Ag/AgCl elektródok, elektródtávolság optimalizálása), valamint a négyelektrodás mérési elrendezés alkalmazása (Zhang et al. 1992; Zhang és Willison, 1992; Grimnes és Martinsen, 2005; Serrano-Finetti et al. 2023).

2.3.2 Bioimpedancia modellek és azok élettani jelentősége

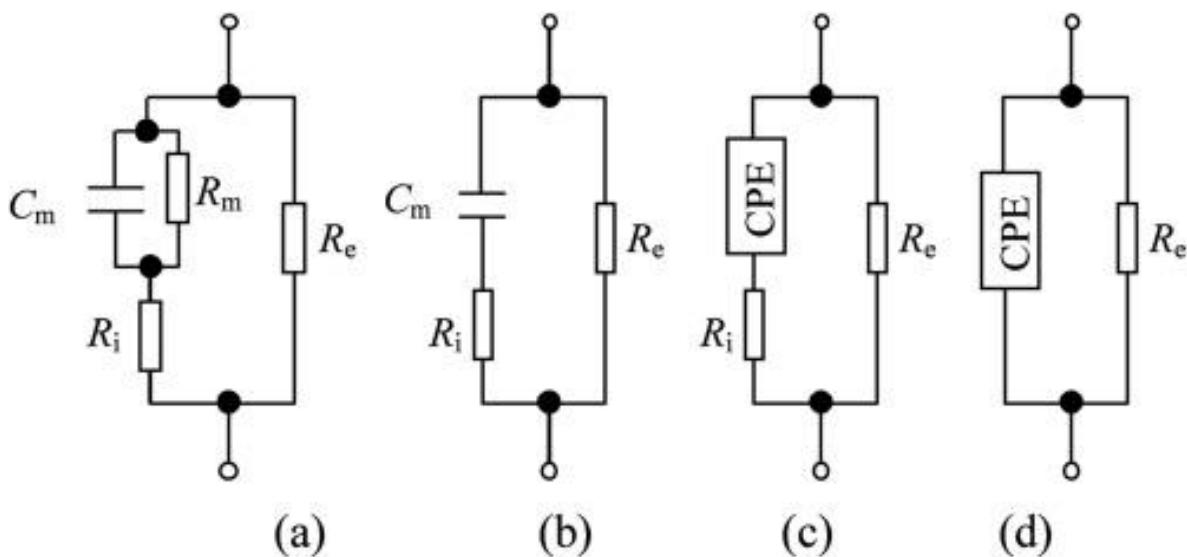
A biológiai szövetek elektromos viselkedésének leírására több, egymással összefüggő modellezési megközelítés született. A Cole-Cole modell (Cole 1932) írta le először az impedancia-frekvencia összefüggést körív alakú görbeként, amely az elektromos válasz diszperziós jellegét szemlélteti. A növényi szövetekre vonatkozóan ezt a megközelítést Hayden et al. (1969) tovább fejlesztették, akik a sejtszintű elektromos „hálózat” analógiájára épülő modellt dolgoztak ki.

A Hayden-modell a növényi sejtek elektromos tulajdonságait három fő komponenssel írja le: az intracelluláris ellenállás, az extracelluláris ellenállás, valamint a sejtmembrán kapacitása és ellenállása alkotják a rendszer alapját. A gyakorlatban a membránellenállás értéke a többi komponenshez képest nagyságrendekkel nagyobb, ezért sok esetben elhanyagolható, és a modell egyszerűsített formában alkalmazható (Wu et al. 2008). Ez az egyszerűsített Hayden-

modell egyetlen sejt elektromos szerkezetét mutatja be, és a Cole-Cole diagramon (Nyquist-diagram) egy ideális félkör alakú görbével írható le. Ugyanakkor a valós növényi szövetek számos sejtből épülnek fel, amelyek különböző geometriával, sejtfalvastagsággal, víztartalommal és ioneloszlással rendelkeznek, ezért a mért impedancia görbe nem tökéletes félkör, hanem fél-ellipszis alakú lefutást mutat (Meiqing et al. 2016).

E jelenség magyarázatára a modellben a konstans fáziselem (CPE - Constant Phase Element) került bevezetésre, amely a nem ideális kapacitív viselkedést írja le, és pontosabb illesztést tesz lehetővé a mért adatokhoz (Zoltowski, 1998). A CPE bevezetése jelentősen javította a modellek illesztési pontosságát, ezért a modern bioimpedancia-elemzésekben a CPE elemet gyakran alkalmazzák a membránkapacitás helyettesítésére (Ando et al. 2014; Jinyang et al. 2016; Li et al. 2017; Meiqing et al. 2016; Serrano-Finetti et al. 2023).

A **2. ábra** a modell különböző változatait szemlélteti, beleértve a CPE-elemmel kiegészített formát, amely a valós szövetek nem ideális kapacitív viselkedését írja le.



2. ábra: A biológiai szövetek ekvivalens áramköri modelljei. (a) Hayden-modell, (b) egyszerűsített Hayden-modell, (c) módosított modell, (d) Re-CPE párhuzamos áramköri modell. R_m : a sejtmembrán ellenállása, C_m : a sejtmembrán kapacitása, R_i : intracelluláris (sejten belüli) ellenállás, R_e : extracelluláris (sejtek közötti) ellenállás (Forrás: Jinyang et al. 2016).

A Cole-Cole és Hayden-féle modellek tehát az élő sejtek bioimpedanciaalapú értelmezésének alapját adják:

- az alacsony frekvenciás tartományban a sejtek közötti ionos vezetés (extracelluláris tér) dominál,
- közepes frekvencián a membrán kapacitív hatása válik meghatározóvá,

- míg magas frekvenciákon az intracelluláris tér (szimplaszt) vezetőképessége lesz a döntő tényező.

E modellek révén az elektromos bioimpedancia nemcsak fizikai paraméterként, hanem élettani indikátorként is értelmezhető, mivel érzékenyen tükrözi a membrán integritását, vízpotenciált, tápanyagellátottságot és stresszreakciókat a növényi szövetekben (Ando et al. 2014; Jinyang et al. 2016; Li et al. 2017; Meiqing et al. 2016; Serrano-Finetti et al. 2023).

A sejtmmodellek további fejlesztését a Double Shell (DBS) modell jelentette, amelyet először (Zhang et al. 1992) alkalmaztak növényi (saláta) szövetekre. A DBS-modell a sejtet két, egymástól elkülönülő határfelülettel írja le: a plazmamembránnal és a tonoplaszttal. A DBS-modell az extracelluláris folyadék ellenállását (R_1), az intracelluláris folyadék ellenállását (R_2), valamint a vakuólum paramétereit (R_4 és Q_5) tartalmazza. Az R_4 a vakuólum ellenállását jelöli, míg a Q_5 a tonoplasztot (vakuólum-membránt) jellemző konstans fáziselemet (CPE) írja le. Ezen felül a Q_3 , egy, a sejtmembrán kapacitív viselkedését leíró CPE-elemet képvisel.

2.3.3 Algoritmusok a bioimpedancia paraméterek kinyerésére

Az utóbbi években számos metaheurisztikus optimalizációs algoritmust alkalmaztak a bioimpedancia-paraméterek kinyerésére (Ghoneim et al. 2022). Ezek az algoritmusok két fő csoportba sorolhatók: determinisztikus (pl. gradiensalapú technikák) és sztochasztikus módszerek (Yousri et al. 2017). A nemlineáris legkisebb négyzetek (NLS) az egyik legszélesebb körben használt hagyományos optimalizációs eljárás. Bár az NLS módszer elterjedt, illesztési teljesítménye nem bizonyul kellően robusztusnak zajos vagy kiugró értékeket tartalmazó mérési adatok esetén, ami a paraméterbecslés pontosságát jelentősen ronthatja (Gholami-Boroujeny és Bolic, 2016).

Ezzel szemben a metaheurisztikus algoritmusok egyre inkább alkalmassá váltak összetett problémák kezelésében különböző tudományterületeken (Yousri et al. 2017). Ilyen módszerek például a Flower Pollination Algorithm (FPA), a Moth Flame Optimization (MFO), a Cuckoo Search (CS) és a Particle Swarm Optimization (PSO) (Gholami-Boroujeny és Bolic, 2016; Yousri et al. 2017; Ghoneim et al. 2022).

A fent említett algoritmusok mellett a korszerű ZFIT algoritmus is számos biológiai kutatásban bizonyult sikeresnek, amint azt több tanulmány is igazolja (AboBakr et al. 2017; Prasad és Roy, 2020; Serrano-Finetti et al. 2023). A ZFIT az egyik leggyakrabban használt eljárás a BIS modellek paramétereinek meghatározására.

Az algoritmus Lagarias et al. (1998) által publikált Nelder–Mead simplex módszeren alapul, és egy univerzális MATLAB-eszközként működik, amely rugalmasan képes különféle áramköri modelleket illeszteni a frekvencia-impedancia adatokhoz (Prasad és Roy, 2020). A ZFIT magában foglalja azokat az alapvető áramköri elemeket, mint az ellenállások és a CPE komponensei, amelyek a Hayden- és Double Shell-modellek fejlesztésében is szerepet kaptak. Serrano-Finetti et al. (2023) ZFIT algoritmust a növények vízhiányos stresszének modellezésére alkalmazta, míg Altana et al. (2024) ugyanezt az eljárást a vashiány kimutatására használták fel.

Mindazonáltal továbbra is kihívást jelent olyan hatékonyabb és adaptívabb optimalizációs eljárások kidolgozása, amelyek kevésbé érzékenyek a mérési zajra, és lehetővé teszik a biológiai paraméterek mélyebb értelmezését a modellek komplexitásának növelésével, például a Cole–Cole paraméterek további kiterjesztése révén (Yousri et al. 2017).

2.3.4 A bioimpedancia alkalmazása a növényi vízellátottság megfigyelésére

A BIS-t relatív korán használták a növények gyökereinek és szárának víztartalmának vizsgálatára, például burgonya és lucerna esetében (Hayden et al. 1969). Barbosa et al. (2022) két elektródával végzett méréseikben szoros korrelációt találtak a levél víztartalma és az impedancia abszolút értéke között. Ugyanakkor a két-elektrodás technika korlátai miatt nem lehetett pontosan meghatározni a szöveti elektromos modell egyes elemeit, például a sejtmembrán kapacitását vagy az intracelluláris ellenállást. Ez a probléma az elektródák kontaktimpedanciájából ered, amely még nem-polarizálható (Ag/AgCl típusú) elektródák esetén is zavarhatja a mérési eredményeket. E korlát leküzdésére a négy-elektrodás mérési elrendezés terjedt el, amely minimalizálja az elektródák hatását a mérésre, ezáltal pontosabb adatokat szolgáltat a szövetek elektromos tulajdonságairól. Ez a konfiguráció egyben lehetővé teszi polarizálható anyagú vagy kapacitív elektródák használatát is, ami növeli az *in vivo* mérések rugalmasságát és reprodukálhatóságát (Morales et al. 2021).

Azzarello et al. (2006) dísznövényeken igazolták, hogy a BIS-spektrum változásai megbízhatóan jelzik a növényi stresszt, beleértve a vízhiányt is. A tanulmány rámutatott, hogy már a víztartalom csekély változásai is detektálhatók az elektromos modell paramétereinek eltolódásaiban, így a BIS hasznos eszköz a korai vízhiány érzékelésére a kertészeti gyakorlatban.

Jamaludin et al. (2015) kimutatták, hogy a BIS hatékony, nem roncsoló módszer a *Labisia pumila* növény vízellátottságának meghatározására. A mért BIS értékek nőttek a vízhiány

növekedésével, a legmagasabb értékeket a 25%-os evapotranszspirációs pótlásnál figyelték meg. Az impedancia szoros korrelációt mutatott a levél vízpotenciállal ($R^2 = 0,78$) és a relatív víztartalommal ($R^2 = 0,73$), ami igazolja, hogy a módszer megbízhatóan tükrözi a növényi vízállapotot.

Hamed et al. (2016) egy sótűrő növény (halofiton) esetében igazolták, hogy a BIS érzékenyen követi a növény fiziológiai állapotának változásait eltérő növekedési és stresszfeltételek mellett. A BIS spektrum jellemzői jól elkülönítették egymástól a különböző környezeti hatások (például sóstressz vagy vízhiány) alatt mért állapotokat, ami alátámasztja a BIS hasznosságát a stresszélettani vizsgálatokban.

Garlando et al. (2020) bizonyították, hogy a szár elektromos impedanciája növekszik a növény kiszáradásakor, majd öntözés után csökken, ami arra utal, hogy az impedancia időbeli változásának *in vivo* nyomon követésével pontosan meghatározható a növény vízellátási igénye. Bar-On és Shacham-Diamand (2021) továbbfejlesztették ezt a megközelítést, amikor dohánynövényeken (*Nicotiana tabacum L.*) *in vivo* szárimpedancia-vizsgálatokat végeztek, és a frekvenciafüggő válaszokat összevont elemes elektromos modell segítségével írták le. Ezzel sikerült jobban megérteni a szár elektromos viselkedését a különböző frekvenciatartományokban, bár a módszer jelenleg még nem képes valós idejű, nagy szintű fiziológiai információk szolgáltatására.

Basak et al. (2020b) több szántóföldi növény (repce, kukorica, búza, szója) levelén végzett BIS mérésekkel szoros összefüggést mutattak ki a levél relatív víztartalom és az BIS-paraméterek között. Többfrekvenciás jellemzőkön alapuló regressziós modell segítségével rendkívül nagy pontossággal (akár $R=0,99$; $R^2=0,98$) becsülték meg a levelek víztartalmát, ami igazolja, hogy a BIS gyors és olcsó eszköz lehet a növények vízállapotának meghatározására.

Xing et al. (2021) *in vivo* levél-BIS mérésekkel kimutatták, hogy a levél impedanciája szorosan korrelál a levelek vízállapotával, és ennek háttérében a sejtek turgorállapotának változása áll. A vizsgálatban PEG-oldattal kiváltott ozmotikus stressz hatására csökkent a sejtek turgora, miközben nőtt a levél impedanciája.

Astashev et al. (2022) kifejlesztettek egy négy-elektrodás helyszíni mérőrendszert fák törzsének BIS vizsgálatára, amellyel a fa fiziológiai állapota és vízellátottsága is értékelhető. Az BIS paraméterek szorosan összefüggtek a szövetek víztartalmával és a száradás mértékével. A mérések alapján megkülönböztethető volt az ágak eltérő nedvességi állapota, a fa egészségi

állapota, sőt az oltási beavatkozások hatása is, ami jelzi, hogy a BIS a fák vízháztartásának monitorozására is alkalmas.

Garlando et al. (2022) több növény egyidejű, *in vivo* szár-impedancia mérésére alkalmas, olcsó és vezeték nélküli rendszert dolgoztak ki. A mérések szoros kapcsolatot tártak fel a szár impedanciája és a talajnedvesség között. Jellemzően öntözés után az impedancia meredeken csökkent, kiszáradáskor nőtt. Gyakorlati szempontból a 1-10 kHz tartomány bizonyult megbízhatónak a méréshez.

Nouaze et al. (2022) 16 órán át, beltéri körülmények között monitorozta a fejes saláta leveleit BIS segítségével 500-300 kHz közötti frekvenciatartományokban, és kimutatták, hogy az adatok jól illeszkednek a DBS modelhez. A vízfelvétel után az ellenállás értékek (apoplaszt, citoplazma, vakuólum) gyorsan nőttek, míg a kapacitások (sejtmembrán, tonoplaszt) csökkentek. Eredményeik szerint az BIS és a DBS model kombináció nem invazív, gyors jelzést ad a levél élettani állapotáról, így alkalmas korai növekedés- és stresszmonitoringra is.

Serrano-Finetti et al. (2023) egy hordozható, négyelektrodás BIS-rendszert építettek (100-1 MHz között), amely nem invazív BIS mérést tett lehetővé. Kimutatták, hogy a száradó levelek esetén az extracelluláris ellenállás következetesen és erősen nő a vízvesztéssel, és ezzel párhuzamosan csökken a frekvencia, továbbá a négyelektrodás elrendezés minimalizálja az elektroda-kontaktus impedancia zavaró hatását.

Zhou et al. (2025) alma alanyok ismétlődő aszálystressz-kísérleteiben alkalmaztak BIS méréseket, és azt találták, hogy bizonyos impedancia-paraméterek (pl. intracelluláris és extracelluláris folyadék ellenállás) erősen korrelálnak a levelek relatív víztartalmával és egyéb élettani mutatókkal (pl. SPAD-klorofillérték, fotoszintetikus teljesítmény). A visszatérő vízhiány hatására az BIS jellemzői fokozatos változást mutattak, ami a növény akklimatizációját és a vízállapot dinamikáját tükrözte a stresszperiódusok során.

Összességében elmondható, hogy a BIS megbízható és érzékeny módszer a növényi vízállapot *in vivo* értékelésére. A módszer előnye, hogy gyors, roncsolásmentes és kvantitatív információt szolgáltat a szövetek víztartalmáról, membránintegritásáról és ionvezető képességéről. Az utóbbi évek fejlesztései különösen a négyelektrodás rendszerek és a frekvenciafüggő modellezés (Double-shell, Cole–Cole) lehetővé teszik a növényi vízhiány korai észlelését, valamint a dinamikus vízforgalom nyomon követését.

2.3.5 A bioimpedancia alkalmazása a tápanyagfelvétel vizsgálatokban, különös tekintettel a növények nitrogénellátottságra

A növényeket érő környezeti stresszhatások és azok élettani következményei már évtizedek óta a növényélettani kutatások központi témáját képezik. A klasszikus módszerek, mint a klorofill-tartalom (Arnon, 1949) a fehérjekoncentráció vagy a stresszindukált enzimaktivitás változásának meghatározása pontos, ám roncsolásos eljárások, így nem alkalmasak az azonos egyedeken végzett ismételt mérésekre, ami megnehezíti a stresszválasz időbeli dinamikájának nyomon követését (Jócsák et al. 2019).

A növényélettan egyik legfontosabb törekvése ezért a roncsolásmentes, *in vivo* és *in situ* mérési technikák fejlesztése, amelyek a növényt érő stresszválaszokat folyamatosan képesek követni (Zhou et al. 2024).

A BIS-paraméterek értelmezéséhez elengedhetetlen a klasszikus analitikai módszerekkel mért változók integrálása, mivel a levél NO_3^- -tartalma, az összes N-tartalom, a klorofillkoncentráció és a vízállapot együttesen határozzák meg a szövet elektromos tulajdonságait.

A korai vizsgálatok alapján a növényi BIS érzékenyen tükrözi a sejtmembrán integritását, a vízállapotot, valamint a sejtkompartmentek elektromos tulajdonságainak változásait. Például burgonya és alma esetében a hűtés hatására a sejten belüli és kívüli ellenállás egyaránt növekedett (Hayden et al. 1969; Toyoda és Tsenkova, 1998), míg szárítás során az ellenállások a víztartalom csökkenésével párhuzamosan jelentősen változtak (Vozáry et al. 1999). A fagytűrés vizsgálatában az BIS paraméterek (különösen az intracelluláris ellenállás) korrelációt mutattak a fagytűrés képességgel (Hietala et al. 1998; Väinölä és Repo, 2000). A BIS hasznos eszköz a növényeket érő környezeti stresszhatások vizsgálatában. Például sugárzás vagy nehézfémek hatására megváltozik a növény elektromos ellenállása (Felföldi et al. 1993). Nikkelterhelésnél a guáva növényeknél enyhe ellenállásnövekedést figyeltek meg, amit a sejtközi ionok nikkelterhelésével magyaráztak (Bazihizina et al. 2015). A gyökér és talaj közötti kapcsolat változásai a mikorrhiza-kolonizáció vagy hidegkezelés hatására, szintén kimutathatók BIS-el, még akkor is, ha más módszerek nem elég érzékenyek (Repo et al. 2014). Emellett vírusfertőzések, mint a paradicsom mozaikvírus okozta helyi sejtpusztulás is nyomon követhető ezzel a technikával (Greenham et al. 1972). Jócsák et al. (2010) bizonyították, hogy a borsógyökerek esetében az elárasztás és a kadmiumterhelés hatására mért BIS értékek jól tükrözték a sejtszerkezet módosulásait.

Bár a BIS alkalmazása egyre elterjedtebb a növénykutatásban, a vizsgálatok döntő többsége eddig elsősorban a növény vízhiányra és általános egészségi állapotára összpontosított (Jamaludin et al. 2015; Wang et al. 2020; Garlando et al. 2022; Reynolds et al. 2023; Serrano-Finetti et al. 2023; Zhang et al. 2022, 2024), míg a tápanyag-specifikus hatások kutatása korlátozott maradt. Mindazonáltal több bizonyíték is arra utal, hogy a BIS képes lehet a tápanyaghiányok kimutatására, különösen a N-hiány felismerésére (Muñoz-Huerta et al. 2014; Li et al. 2017; Basak et al. 2020a). Korábbi tanulmányok emellett kimutatták, hogy a módszer alkalmas a foszfor (P) (Meiqing et al. 2016) és a kálium (K) (Jinyang et al. 2016) hiányának azonosítására is.

Meiqing et al. (2016) bizonyították, hogy a P-hiányos paradicsomnövényeknél (*Solanum lycopersicum* L.) az extracelluláris folyadék ellenállás emelkedett és a membrán kapacitás szignifikánsan csökkent, amely a gyökér- és levélszövetek ionvezető képességének romlásával függött össze.

Hasonlóan Jinyang et al. (2016) mérései kimutatták, hogy a K-hiány jelentősen megnövelte az intracelluláris tér ellenállását és csökkentette a sejtmembrán kapacitását, ami a membránszerkezet károsodását jelezte. A BIS jól korrelált a növényi K-tartalommal, ezért alkalmas a tápanyaghiány korai felismerésére és a membrán-fiziológiai változások nyomon követésére.

Egy nemrégiben megjelent tanulmány kimutatta, hogy a BIS alkalmas volt a vashiány kimutatására is (Hamed et al. 2023). A kutatók kimutatták, hogy a vashiányos növények esetében az intracelluláris és extracelluláris folyadék ellenállás nőtt, míg a sejtmembrán kapacitása csökkent, ami a membrán integritásának romlását jelezte. A vizsgálat megerősítette, hogy a BIS érzékeny módszer a mikrotápanyag-hiányok kimutatására, különösen a sejtmembrán és az ionvezetés korai változásainak nyomon követésére, ezáltal alkalmas lehet a növényi vasstressz nem roncsolásos diagnosztikájára.

Li et al. (2017) bizonyították, hogy a N-hiány szignifikánsan befolyásolta a növényi sejtek elektromos tulajdonságait, különösen a levelek extracelluláris és intracelluláris folyadék ellenállását, valamint a sejtmembrán kapacitását. A kísérleteik során a paradicsom leveleiben 1 Hz-1 MHz frekvenciatartományban mérték az impedanciát, és az adatokat egy módosított Cole-Cole egyenértékű áramkörmodell alapján elemezték, amely tartalmazta az extracelluláris és intracelluláris folyadék ellenállást, valamint a sejtmembrán kapacitív elemét. Az eredmények szerint a N-hiányos növényeknél a teljes impedancia-mérték ($|Z|$) szignifikánsan

magasabb volt, mint az optimális N ellátottságú növényeknél, mivel a csökkent N-tartalommal együtt járt a levelek ionkoncentrációjának csökkenése, ami a vezetőképesség csökkenését okozta. Az impedancia görbékből jól látható volt, hogy a különböző N-szintek hatása főként az alacsony frekvenciatartományban (1 Hz-10 kHz) jelentkezett, ahol az áram elsősorban az extracelluláris folyadék-térben halad, mivel a sejtmembrán kapacitása itt még blokkolja az intracelluláris vezetést. Magasabb frekvencián a különbségek csökkentek, mivel a membrán kapacitív ellenállása lecsökkent, és az áram már a sejten belüli térben is áthaladhatott. Ez a jelenség a biológiai szövetekre jellemző β -diszperzió következménye. A N-hiány hatására a sejtmembrán kapacitása 2,69% N-tartalom alatt élesen csökkent, ami a membrán sérülését, a szerkezeti integritás romlását jelezte. Ezzel párhuzamosan az extracelluláris folyadék ellenállás szintén lecsökkent, míg az intracelluláris folyadék ellenállás nőtt, ami arra utalt, hogy a sejtől ionok szivárogtak ki az extracelluláris folyadéktérbe. Ennek következtében a extracelluláris / intracelluláris arány közelített az 1-hez, amely a sejtmembrán károsodásának mértékét jellemző érzékeny indikátornak bizonyult. A kísérletben kimutatták, hogy a sejtmembrán kapacitás és a N-tartalom között pozitív kapcsolat áll fenn: a növekvő N-tartalommal a sejtmembrán kapacitás értéke is nőtt, ami a membrán rugalmasságának és ionvezető képességének javulását jelezte. Ezzel szemben N-hiány esetén a sejtmembrán permeabilitása megnőtt, az ionegyensúly felborult, és a sejtek elektrofiziológiai viselkedése jelentősen módosult. A legérzékenyebb frekvenciák a 2,51 kHz és 13,59 kHz tartományban voltak, amelyek alapján a levelek N-tartalmára regressziós modell is készült, magas korrelációs együtthatóval. Ugyanakkor a tanulmány egyik fő korlátja, hogy az extracelluláris folyadék ellenállásának változását valószínűleg befolyásolta az extracelluláris térben lévő NO_3^- ionok koncentrációjának módosulása, amely közvetlen hatással lehetett a BIS-mérések során kapott eredményekre (Crawford és Glass, 1998; Nikolic et al. 2012; Hu et al. 2014).

Basak et al. (2020b) egy hordozható AD5933 alapú BIS-mérőrendszert fejlesztettek a különböző kultúrnövények (kukorica, búza, szója és repce) N-ellátottságának *in vivo* becslésére. Az 5-15 kHz közötti frekvenciatartományban végzett méréseik alapján kimutatták, hogy a N-hiányos növények leveleiben az BIS értékek szignifikánsan magasabbak voltak, míg a növekvő N szinttel párhuzamosan az impedancia csökkent, ami a növények ionvezető képességének javulására utalt. Továbbá statisztikailag is igazolták a különbségeket az egyes N-kezelések között, és a többváltozós regressziós modellek erős korrelációt mutattak a levél N koncentráció és a BIS-paraméterek között. A kutatók megállapították, hogy az optimális

frekvenciatartomány 8,7-12 kHz között van, ahol a BIS legérzékenyebben reagál a növények N-ellátottsági állapotára.

Muñoz-Huerta et al. (2014) a fejjessaláta (*Lactuca sativa* L.) N-ellátottságának meghatározására alkalmazta a BIS-t. A növényi N-tartalom és az impedanciafázis minimumpontja közötti összefüggéseket vizsgálták. A kísérletben négy különböző NO_3^- tartalmú tápoldattal kezelt növénycsoportot mértek, 1-100 kHz közötti frekvenciatartományban, nem invazív elektródás módszerrel. A szerzők az impedancia fázisszögének minimumát (ϕ min) és az ahhoz tartozó frekvenciát (f min) elemezték, és kimutatták, hogy az f min szoros, pozitív korrelációt mutatott a növény teljes N-tartalmával ($R^2 = 0,99$), míg a fázis- és impedancia minimum értékek (ϕ min, Z min) csak gyenge, illetve negatív kapcsolatot jeleztek. A frekvencia növekedése a növény szövetének nagyobb ionkoncentrációját és vezetőképességét tükrözte, mivel a NO_3^- -ionok csökkentették az extracelluláris folyadék ellenállást és lerövidítették a relaxációs időt. Az eredmények szerint az impedancia spektrum legérzékenyebb tartománya 20-50 kHz között volt, ahol a sejtmembrán már részben átjárható az ionáram számára.

Az eddigi irodalmi eredmények alapján a klasszikus analitikai és növényélettani paraméterek nem csupán kiegészítő mérések, hanem a BIS-paraméterek élettani értelmezésének alapját képezik. A levél NO_3^- -tartalma és az összes N-tartalom elsősorban az impedancia modulus, az extracelluláris folyadék ellenállása, valamint egyes spektrális jellemzők értelmezéséhez kapcsolható. A rendelkezésre álló vizsgálatok alapján alacsonyabb N-ellátottság esetén a levelek ionkoncentrációja csökken, ami a szövet vezetőképességének romlásához és az impedancia növekedéséhez vezethet (Muñoz-Huerta et al. 2014; Li et al. 2017). Ezzel összhangban Muñoz-Huerta et al. (2014) kimutatták, hogy az impedanciafázis minimumához tartozó frekvencia szoros kapcsolatban áll a növény teljes N-tartalmával, ami azt jelezi, hogy a spektrális válasz érzékenyen tükrözi a növényi ionállapot változásait. A N-hiány egyidejűleg módosítja az extracelluláris és intracelluláris folyadék ellenállását, valamint a sejtmembrán kapacitását is, ami a sejtszintű ioneloszlás és membránállapot átrendeződésére utal (Li et al. 2017).

Az extracelluláris folyadék ellenállásának változása összefüggésbe hozható az extracelluláris NO_3^- -koncentráció változásával, mivel a NO_3^- az extracelluláris tér ionösszetételének meghatározó komponense (Nikolic et al. 2012). Ennek megfelelően az ionkoncentráció csökkenése az extracelluláris folyadék ellenállásának növekedéséhez vezethet. Az a

feltételezés azonban, hogy az extracelluláris NO_3^- -koncentráció változása BIS-értékváltozásokat okozhat, mindeddig még nem került közvetlen vizsgálatra.

A sejtmembrán kapacitása elsősorban a membrán integritásának és fizikai állapotának érzékeny BIS-alapú indikátoraként értelmezhető (Meiqing et al. 2016). Li et al. (2017) bizonyították, hogy a sejtmembrán kapacitása pozitív kapcsolatot mutatott a levél N-tartalmával, míg N-hiány esetén kifejezett csökkenést mutatott, amit a sejtmembrán szerkezeti sérülésével, az ionegyensúly felbomlásával és a membrán permeabilitásának növekedésével magyaráztak. A membránkapacitás csökkenésének egyik lehetséges oka, hogy alacsony N-ellátottság mellett mérséklődik a membránfelszínen tárolható töltés mennyisége, mivel nagyobb kapacitás esetén a membrán több töltést képes tárolni a felszínén (Azzarello et al. 2012). Korábbi vizsgálatok azt is igazolták, hogy nemcsak N-, hanem P- és K-hiány esetén is csökkenhet a sejtmembrán kapacitása (Jinyang et al. 2016; Meiqing et al. 2016). Emellett Liu et al. (2020) kimutatták, hogy N-hiányban csökkenhet a sejtmembrán fluiditása és növekedhet a membrán merevsége. Ezzel összhangban Narasimhan et al. (2013) arra mutattak rá, hogy N-hiány hatására a membrán lipidösszetétele is módosul, ami tovább erősíti azt az értelmezést, hogy a N-ellátottság változása a membrán biofizikai tulajdonságait is befolyásolja.

Az intracelluláris és a vakuólumhoz kapcsolható ellenállásparaméterek értelmezése összetettebb. Az intracelluláris folyadék ellenállása az irodalom alapján sok esetben kisebb érzékenységet mutat, mint az extracelluláris térhez kapcsolható paraméterek. Ennek egyik lehetséges oka, hogy a citoplazmában a NO_3^- gyors asszimilációja és kompartmentációja, különösen a nitrát-reduktáz (NR) aktivitása, valamint a kloroplasztiszokban zajló további redukciós folyamatok révén korlátozza a szabad ionkoncentráció nagyobb ingadozásait (Masclaux-Daubresse et al. 2010; Li et al. 2022). Ezt az értelmezést alátámasztják Wang és Shen (2011) megfigyelései is, akik NO_3^- -utánpótlást követően alacsony NO_3^- -koncentrációt mutattak ki a citoplazmában. A vakuólumhoz kapcsolható ellenállásparaméterek értelmezése különösen fontos a NO_3^- raktározási szerepe miatt. A citoplazma elsősorban metabolikus térként működik, míg a vakuólum a NO_3^- fő raktározási kompartmentjének tekinthető (Li et al. 2013). A NO_3^- hosszú távú szállítása során a xilémből a levél apoplazmájába kerül (Nikolic et al. 2012), majd a mezofillum sejtekbe jut, ahol vagy redukálódik NO_2^- -tá, vagy a vakuólumban raktározódik. A xilémnedv magas, valamint a floém alacsony NO_3^- -koncentrációja arra utal, hogy a NO_3^- hatékonyan kerül felvételre a levélsejtek által (Crawford és Glass, 1998; Nikolic et al. 2012). A vakuólumban tárolt NO_3^- tartalék N-forrásként szolgál, amely gyorsan mobilizálható a citoszolikus NO_3^- -szint fenntartása érdekében alacsony külső

N-ellátottság esetén (Cookson et al. 2005; Richard-Molard et al. 2008). Ennek alapján feltételezhető, hogy a vakuólum elektromos tulajdonságai kapcsolatban állhatnak a NO_3^- raktározás dinamikájával. Ugyanakkor Nouaze et al. (2022) rámutattak, hogy a vakuólum ellenállása viszonylag kis mértékben változik, mivel a vakuólum térfogatának mintegy 90%-át víz teszi ki, és az ionok citoplazma és sejtfal közötti áramlása nem okoz jelentős változást az abszolút koncentrációban.

A BIS-mérések értelmezése szempontjából fontos figyelembe venni, hogy a növényi fajok között jelentős különbségek mutatkoznak a levélszerkezet, a víztartalom, valamint az ioneloszlás tekintetében. A légyszárú, magas víztartalmú levelekkel rendelkező fajok, mint például a zöldségkultúrák esetében az extracelluláris és intracelluláris folyadékterek aránya, valamint a mezofillum szerkezete alapvetően meghatározza az elektromos vezetési útvonalakat. Emellett a NO_3^- akkumuláció mértéke is fajspecifikus tulajdonság, amely jelentősen befolyásolhatja a bioimpedancia-paraméterek alakulását. Ennek megfelelően a BIS-eredmények értelmezése csak a vizsgált növényfaj élettani és anatómiai sajátosságainak figyelembevételével tekinthető megalapozottnak (Tomkiewicz és Piskier, 2012; Muñoz-Huerta et al. 2014; Tegeder és Masclaux-Daubresse, 2018; Basak et al. 2020a; Nouaze et al. 2022; Serrano-Finetti et al. 2023; Zhang et al. 2024).

A fenti eredmények alapján a BIS-paraméterek a növényi sejtek ioneloszlásának, membránállapotának és kompartmentációs folyamatainak integrált biofizikai indikátoraiként értelmezhetők.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

A BIS növényélettani alkalmazhatóságának vizsgálatához több, egymásra épülő kísérleti rendszert alkalmaztunk. A kísérletek eltérő, de egymást kiegészítő célt szolgáltak: egyrészt a módszer validálását és a modellezési megközelítések összehasonlítását, másrészt a nitrogénellátottság és a vízhiány biofizikai hatásainak feltárását. Az elővizsgálatokat 2022 őszén és 2023 tavaszán, míg a fő vizsgálatokat 2023 nyarán és őszén, valamint 2024 tavaszán és őszén, továbbá 2025 tavaszán és őszén végeztük. A növénynevelés és a mérések szabályozott környezeti feltételek mellett, főként fényszobában és üvegházban történtek. Az egyes kísérleti rendszerek főbb jellemzőit az 1. táblázat szemlélteti.

A vizsgálatok első fázisában étkezési paprika (*Capsicum annuum* L.) növényeket alkalmaztunk a BIS mérési eljárás és a kapcsolódó matematikai modellek (Zfit és PSO-alapú Double-Shell modell) validálására vízstressz-körülmények között. A paprika kiválasztását az indokolta, hogy vízstresszre adott élettani válaszai jól dokumentáltak (Delfine et al. 2002), továbbá levélanatómiai és szöveti sajátosságai (Mardani et al. 2017; Nicolai et al. 2023) megfelelő kísérleti rendszert biztosítottak a növény vízállapota és a BIS-paraméterek közötti összefüggések vizsgálatához. E faj alkalmazása lehetővé tette, hogy a módszer biofizikai alapjait egy jól kontrollálható stresszrendszerben értékeljük, még a N-specifikus vizsgálatok megkezdése előtt. Ezt követően a kutatás fókuszsa a N-ellátottság hatásának vizsgálatára helyeződött át, amelyhez fejes saláta (*Lactuca sativa* L.) növényeket választottunk. A saláta kiválasztását egyrészt a levélben történő NO_3^- felhalmozásra való fokozott hajlama, másrészt a levélalapú élettani és tápanyagdiagnosztikai vizsgálatokban betöltött kiemelt szerepe indokolta (Chowdhury et al. 2021; Yaseen és Takács-Hájos, 2021; Zandvakili et al. 2022). Ez a kísérleti rendszer különösen alkalmasnak bizonyult arra, hogy feltárjuk a BIS-paraméterek és a növényi N-állapot, illetve a levél NO_3^- -tartalma közötti összefüggéseket. A további kísérletekben uborka (*Cucumis sativus* L.) növényeket alkalmaztunk annak vizsgálatára, hogy a salátában azonosított összefüggések más fajban, illetve eltérő genotípusok esetében is kimutathatók-e. Az uborka bevonását az indokolta, hogy intenzív termesztésben jelentős kultúra, jól reagál a tápanyagellátás változásaira, és alkalmas rendszer a korai N-hiány élettani következményeinek vizsgálatára (Hesari et al. 2023). Ez lehetővé tette a BIS-módszer diagnosztikai potenciáljának és általánosíthatóságának értékelését eltérő morfológiai és élettani háttér mellett. A kísérleti felépítés tehát egymásra épülő megközelítést követett: a paprika esetében a módszer validálása és biofizikai alapjainak tisztázása történt, a saláta esetében a N-ellátottsággal összefüggő élettani kapcsolatok feltárása, míg az uborka esetében a módszer

fajok közötti alkalmazhatóságának, valamint korai diagnosztikai értékének vizsgálata valósult meg.

1. táblázat: A bioimpedancia-spektroszkópiai vizsgálatok kísérleti rendszereinek és kezeléseinek összefoglalása.

Kísérlet	Növényfaj	Cél	Kezelések	Ismétlésszám	Mintavétel	Fenológia
Módszertani validáció	Étkezési paprika ('Redskin') fajta	A vízstressz és levélszáradás hatásának vizsgálata és összevetése a BIS-paraméterekkel; a ZFIT és PSO modellek validálása vízstressz körülmények között	(1) Szárazságstressz: jól öntözött, mérsékelt és súlyos; (2) Levélszáradás időfüggően	Kezelésenként 5 ismételés	Egyszeri és idősoros	12 hetes állapot
N-vizsgálat előkísérletek	Fejes saláta ('Kobak') fajta	Az impedancia spektrum érzékeny frekvenciatartományai meghatározása a NO_3^- felvételre	NO_3^- megvonás, majd visszapótlás	Kezelésenként 5 ismételés	0, 1, 3, 5 és 6 órában végzett mérések (idősoros)	5-6 leveles állapot
	Fejes saláta ('Kobak') fajta	Az apoplasztikus NO_3^- és az R_1 kapcsolatának feltárása	N0-N4	Kezelésenként 4 ismételés	Egyszeri, a kísérlet végén	5-6 leveles állapot
Genotípus × N-hatás)	Fejes saláta ('Kobak', 'Május királya')	A fajta és a N-ellátottság hatásának vizsgálata a BIS-paraméterekre	N0-N4	Kezelésenként és fajtánként 5 ismételés	Egyszeri, a kísérlet végén	5-6 leveles állapot
N-dózis hatás	Uborka ('ES2217 F ₁ ')	Eltérő N-dózisok hatásának vizsgálata a BIS-paraméterekre	N1-N4	Kezelésenként 5 ismételés	Egyszeri, a kísérlet végén	6-7 leveles állapot
Korai N-diagnosztika	Uborka ('ES2217 F ₁ ', 'Nairobi F ₁ ')	A korai N-hiány kimutatása BIS-paraméterekkel és genotípusfüggő válaszok vizsgálata	Alacsony N (2.2 mM) vs. optimális N (11 mM)	Kezelésenként és genotípusonként 5 ismételés	Egyszeri, a kísérlet végén	3 leveles állapot
Komplex N és vízstressz interakció	Uborka ('ES2217 F ₁ ') genotípus	Az eltérő N-formák és vízellátottsági fázisok együttes hatásának vizsgálata a BIS paraméterekre és a növényi N-státuszra	N-formák: NO_3^- , NH_4NO_3 , WP, CTRL; fázisok: S1 (max. táp), S2 (limitált táp), S3 (limitált táp + szárazság), S4 (rehidratáció)	Kezelésenként 5 ismételés	Idősoros és a kísérlet végén	4-6 leveles állapot

3.1 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása vízhiányos körülmények között

A vízhiány hatásainak vizsgálatát paprikanövényeken (*Capsicum annuum* L., 'Redskin' fajta) végeztük. A növényeket fényszobában neveltük, ahol a környezeti paramétereket a következők szerint állítottuk be: hat darab teljes spektrumú, 25 W teljesítményű növénynevelő LED-lámpa biztosította a megvilágítást, 40 cm távolságra elhelyezve a növényektől. A hőmérsékletet $24 \pm 1,5$ °C-on tartottuk, a CO₂-szint 380-420 ppm között volt, míg a relatív páratartalom $75 \pm 1\%$ volt. A fotoperiódust 18 órás világos és 6 órás sötét ciklusra állítottuk be, a lámpák fotoszintetikusán aktív sugárzása (PPFD) $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ értéket biztosított.

A vízhiányos kezelésekhez a paprikanövényeket 1 literes műanyag edényekbe ültettük, tőzeg és perlit keverékbe (2:1, v/v arány). A növényeket naponta feles töménységű Hoagland-oldattal öntöztük Oszlányi et al. (2020) alapján. A vízhiány hatásainak részletes vizsgálatához három kísérleti részt (adatállományt) dolgoztunk ki.

Első kísérleti rész (Adatkészlet 1): Az első kísérleti részben kilenches paprikanövényeket vizsgáltunk három eltérő vízellátottsági szinten Chen et al. (2019) szerint:

- NS (normál vízellátottságú): naponta öntözött növények, 68,70% talajnedvességgel,
- MS (közepes vízstressz): háromnaponta öntözött növények, 53,00% talajnedvességgel,
- HS (erős vízstressz): 10 napon át tartó teljes vízmegvonás, 39,80% talajnedvességi értékkel.

A talajnedvességet PMS710 (Yieryi®, Shanghai, China) talajnedvesség-érzékelővel ellenőriztük.

Második kísérleti rész (Adatkészlet 2): ebben a vizsgálatban paprika növényekről származó 5×5 cm-es levélmintákat helyeztünk el a fényszobába, ahol a levelek spontán száradhattak. A BIS méréseket háromórás időközönként végeztük. A módszert Serrano-Finetti et al. (2023) alapján, kisebb módosításokkal végeztük.

Harmadik kísérleti rész (Adatkészlet 3): A második adatállományhoz hasonlóan 5×5 cm-es levélmintákat vizsgáltunk, azonban itt a BIS méréseket óránként is rögzítettük, Tanentzap et al. (2015) protokolljához igazodva. A tömegvesztéseket és a spektrumokat minden mérési pontnál dokumentáltuk (WLC 2/A2, RADWAG).

3.2 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása az eltérő nitrogén-ellátottsági szintek vizsgálatához

A N-ellátottság hatásának vizsgálatához két kísérleti körülményt alkalmaztunk: egy kontrollált fényszobai rendszerben nevelt, két fejű saláta fajtát érintő kísérletet, valamint egy üvegházi körülmények között végzett uborkakísérletet. A következő alfejezetek a két kísérlet beállítását foglalják össze.

3.2.1 Eltérő nitrogéndózisok beállítása két fejű saláta fajtában

A kísérletet két részre osztottuk fel: egy előzetes vizsgálatra és egy fő kísérleti szakaszra. Az előzetes vizsgálat célja az volt, hogy azon frekvenciatartományokat azonosítsam, amelyek a legérzékenyebben követik a levelek NO_3^- -dinamikáját, és megbízható alapot szolgáltatnak a BIS-paraméterek értelmezéséhez az eltérő N-ellátottsági szintek esetében.

Az előzetes vizsgálat során a levél NO_3^- felvételét Nikolic et al. (2012) módszere alapján határoztuk meg. A növényeket fényszobában neveltük. A 'Kobak' fajtát standard Hoagland-oldattal tápoldatoztuk (Hoagland és Arnon, 1950). Az előkísérletben alkalmazott tápoldat összetételét Nikolic et al. (2012) alapján állítottuk be, amelyet a **2. táblázat** mutat be.

2. táblázat: Az előkísérletben alkalmazott Hoagland-tápoldat összetétele a 'Kobak' salátafajta NO_3^- -felvételi vizsgálatához.

Komponens	Koncentráció
Makroelemek	mM
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	2,00
K_2SO_4	0,70
KH_2PO_4	0,10
KCl	0,10
MgSO_4	0,50
Mikroelemek	μM
H_3BO_3	10,00
MnSO_4	0,50
CuSO_4	0,20
ZnSO_4	0,10
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	0,01
Fe^{III} -EDTA	80,00

A négy lombleveles fejlettségi állapot elérésekor, a vetéstől számított 14. napon a növényeket N-mentes tápoldatba helyeztük 5 napra, hogy viaszorítsuk a gyökér NO_3^- felvételi folyamatait. Ezt követően $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ formájában 5 mM koncentrációjú NO_3^- adtuk a tápoldathoz. A BIS méréseket kiindulási állapotban (a $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ hozzáadása előtt), majd az egyik kezelési csoportban 1, 3 és 5 órával, a másikban pedig 3 és 6 órával a NO_3^- adagolást követően végeztük el. A mérési időpontokat úgy választottuk meg, hogy lefedjék a NO_3^- visszapótlást követő korai válaszfázist (Nikolic et al. 2012), amikor a levélszövet

ioneloszlásában és elektromos tulajdonságaiban bekövetkező változások már kimutathatóvá válhatnak. Ez lehetővé tette a BIS-válaszok időbeli dinamikájának követését, valamint azon frekvenciatartományok azonosítását, amelyek a legérzékenyebben reagálnak a NO_3^- -ellátás rövid távú változásaira. Az 5. és 6. órában meghatároztuk azokat a frekvenciatartományokat, amelyek a legnagyobb érzékenységet mutatták a NO_3^- koncentráció változásaira. Az impedancia abszolútértékének frekvenciafüggését Bode-diagramokon ábrázoltuk, a BIS-spektrumokat pedig 1 Hz és 100 kHz közötti tartományban rögzítettük. Az előkísérlet befejezése után a ‘Kobak’ fajtát öt különböző N-kezelésnek (**3. táblázat**) tettük ki annak vizsgálatára, hogy kimutatható-e kapcsolat az extracelluláris tér NO_3^- koncentrációja és az extracelluláris folyadék ellenállás között.

Az előzetes vizsgálat eredményeire alapozva ezt követően beállítottuk a fő kísérletet, amelyben már két fejes saláta fajtát (‘Kobak’ és ‘Május királya’) vizsgáltunk eltérő N-ellátottság mellett. A két fajta kiválasztását eltérő NO_3^- -felhalmozási jellemzőik indokolták. A fajták kiválasztása korábbi kísérletek eredményei alapján történt (Yaseen és Takács-Hájos, 2022). A ‘Kobak’ fajta a korábbi kutatási eredmények szerint nagyobb NO_3^- -felhalmozási hajlamot mutatott, míg a ‘Május királya’ fajta alacsonyabb NO_3^- -akkumulációval jellemezhető.

A kísérletben kezelésként négy magot vetettünk $4,5 \times 4,5 \times 4$ cm-es közetgyapot kockákba, majd ezeket 15 cm átmérőjű, 110 g perlitet tartalmazó edényekbe helyeztünk el. A csíráztatást két napon át 25 °C-on, sötétben végeztünk, ezt követően az edényeket a fényszobába vittük. A megvilágítást hat darab, teljes spektrumú, 25 W-os növénynevelő LED-lámpával biztosítottuk, 40-50 cm-es távolság mellett. A fényszoba környezeti paraméterei a következők voltak: $20 \pm 1,5$ °C hőmérséklet, 380-420 ppm CO_2 -koncentráció, $67 \pm 1\%$ relatív páratartalom. A növényeket 18 órás világos és 6 órás sötét periódusban neveltük. A lámpák PPFD értéke $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ volt. A növények tápoldatozását Yamazaki oldattal végeztük Li et al. (2017) alapján. A kísérletekhez egységes fejlettségű, azonos méretű palántákat választottuk ki. A különböző N-ellátottsági szinteket ötféle tápoldattal állítottuk be, amelyek a Yamazaki-formula N-tartalmának 25%, 50%, 75%, 100% és 125%-át képviselték (N0, N1, N2, N3, N4) (**3. táblázat**). A növények tápoldatozását Oszlányi et al. (2020) módszere alapján, kétnaponta végeztük, a sziklevelek megjelenését követően. Minden trágyázási napon megmértem az edények alatt összegyűlt tápoldat pH-ját, majd 1 M citromsavval 5,8-6,0 közé állítottuk be.

3. táblázat: A fejés saláta kísérletekben alkalmazott Yamazaki-tápoldat összetétele.

Komponens	N0	N1	N2	N3	N4
			mM		
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0,37	0,75	1,12	1,49	1,49
KNO ₃	0,99	1,99	2,99	3,99	3,99
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,16	0,33	0,50	0,67	0,67
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
NaH ₂ ·PO ₄	0,50	0,33	0,16	0	0
(NH ₄) ₂ CO ₃	0	0	0	0	0,04
KCl	3,00	1,99	1,00	0	0
Na ₂ Fe-EDTA	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
H ₃ BO ₃	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
			μM		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ ·4H ₂ O	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

3.2.2 Eltérő nitrogéndózisok beállítása uborkanövényeken üvegházi körülmények között

Az üvegházi kísérletet uborka (*Cucumis sativus* L.) növényeken állítottuk be Pusztaföldváron, az 'ES2217 F₁' genotípus felhasználásával (Orosco Kft., Orosháza, Magyarország). A kísérletben összesen 20 növényt alkalmaztunk, öt ismételéssel. A vetést kőzetgyapot kockába végeztük. A két valódi leveles fejlettségi állapot elérésekor a növényeket üvegházi körülmények között továbbneveltük.

A kísérlet során a maximális nappali fotoszintetikusan aktív sugárzás (PPFD) 1520,9 μmol m⁻² s⁻¹ értéket ért el. A fényintenzitás mérését PAR-FluorPen FP 110 készülékkel végeztük (Photon Systems Instruments, Czech Republic), amely beépített PAR szenzorral rendelkezik. A nappali hőmérséklet 25 és 33 °C között változott (átlag: 28 °C), éjszaka pedig nem csökkent 20 °C alá. A nappali relatív páratartalom 30-93,1% között alakult (átlag: 63,8%).

A tápoldatozást a kiültetést követően kezdtük el. A tápoldatot Solinure 5 General Purpose 20-20-20+TE műtrágya felhasználásával készítettem, 1,5 g műtrágyát oldva 1 L vízben. Az így kapott oldat főbb ionformákra vonatkozó koncentrációi a következők voltak: N-NO₃: 1,04 mM; N-NH₄: 2,83 mM; N-karbamid: 3,07 mM; P₂O₅: 2,11 mM; K₂O: 3,18 mM; Fe: 10,7 μM; Mn: 2,7 μM; B: 13,9 μM; Cu: 0,47 μM; Mo: 0,31 μM; Zn: 0,46 μM. A teljes N-koncentráció 6,94 mM volt, amely a három N-formából (nitrát, ammónium, karbamid) tevődött össze. A becsült összes N-tartalom 97 mg/l koncentrációnak felelt meg. Az üvegházi uborkatermesztésben

általánosan javasolt N-tartalom 100-200 mg /l között van, így a kezdeti tápoldat a javasolt tartomány alsó értékeit reprezentálta (Hesari et al. 2023).

A két-három valódi leveles fejlettségi stádiumot követően emelt N-szinteket alkalmaztunk. A N-koncentráció növeléséhez KNO₃-oldatot használtam, az alábbi kezeléseknek megfelelően: N1: 1.64 mM; N2: 3.29 mM; N3: 4.92 mM; N4: 6.56 mM. Ezek a kezelések a viszonylag alacsony ellátottságtól a közepes, illetve magasabb N-szintekig terjedtek, lehetővé téve az uborkanövények N-ellátottságra adott élettani és bioimpedancia-válaszainak vizsgálatát széles koncentrációtartományban. Az öntözés során a tápoldat kijuttatott mennyiségét a növények növekedéséhez igazítottuk: az induló 70-80 mL/alkalom mennyiséget fokozatosan 150-200 ml/alkalom értékre emeltük, biztosítva a folyamatos víz- és tápanyagellátást.

3.3 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása a korai nitrogénhiány felismerésére

A korai N-hiány kimutatására irányuló kísérletet az üvegházi kísérletek tapasztalatait figyelembe véve, két uborka (*Cucumis sativus* L.) genotípus felhasználásával állítottuk be: egy kigyóuborkán ('Nairobi F₁') és egy konzervuborka-hibriden ('ES2217 F₁') (Orosco Kft., Orosháza, Magyarország). A két genotípust azért választottuk, mert eltérő morfológiai tulajdonságokkal és tápanyag-hasznosítási hatékonysággal rendelkeznek (Hesari et al. 2023; Mirhosseini et al. 2024).

A magokat 75 × 75 × 65 mm-es közetgyapot kockákba vetettük, és kontrollált körülmények között neveltem. A fényszoba környezeti paramétereit a következők szerint állítottam be: 16/8 órás világos/sötét fotoperiódus, 300 μmol m⁻² s⁻¹ intenzitású fotoszintetikusan aktív sugárzás (PAR), amelyet fehér LED-lámpák biztosítottak 450 és 660 nm-es emissziós maximumokkal. A nappali és éjszakai hőmérsékletet egyaránt 25 °C-on tartottuk, a relatív páratartalmat pedig 60-70% között. A növényeket az első valódi levél megjelenéséig desztillált vízzel öntöztük, ezt követően pedig fél töménységű Hoagland-oldatot alkalmaztunk Li et al. (2024) szerint.

Az első valódi levelek kifejlődésekor a növényeket két N-ellátottsági csoportba osztottuk fel (alacsony N és optimális N), módosított Yamazaki-tápoldatok felhasználásával (Li et al. 2017). Minden kezelési csoportba 25 véletlenszerűen kiválasztott növény került. Minden egyed esetében három technikai ismétlést végeztünk el a növényélettani és BIS-méréseknél, és az ismétlések átlagát használtuk a statisztikai kiértékeléshez. Így összesen 100 növény adatai képezték a vizsgálat alapját. A beállított két N-kezelés a következők voltak: optimális N-ellátottság (11 mM), valamint alacsony N-ellátottság (2,2 mM), amely limitáló, de még nem

extrém hiányállapotot biztosított. A koncentrációk megválasztása a szakirodalomban alkalmazott tartományok alapján választottuk meg (Xu et al. 2024).

Optimális N-ellátottság (11 mM összes N/MN):

Az optimális N-tartalmú tápoldatot a Yamazaki-oldattal készítettük el. A makroelemek koncentrációja (mM): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 3,00; KNO_3 , 5,00; KH_2PO_4 , 1,00; KCl , 3,00; NaH_2PO_4 , 0,50; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,99. Mikroelemek (μM): H_3BO_3 (30), $\text{Na}_2\text{Fe-EDTA}$ (60), $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (10), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,76), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,32), és $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,01).

Alacsony N-ellátottság (2,2 mM összes N/AN):

A csökkentett N-szint eléréséhez a KNO_3 és a $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ koncentrációit 0,20 mM-re, illetve 1,00 mM-re mérsékeltek. A K^+ -hiányt 2,40 mM K_2SO_4 hozzáadásával, a Ca^{2+} -hiányt pedig 2,00 mM CaCl_2 alkalmazásával kompenzáltam. A többi összetevő koncentrációját változatlanul hagytuk, így biztosítva, hogy kizárólag a N legyen a limitáló tápelem, miközben az ionháztartás egyensúlya fennmarad. A két tápoldatot minden második nap cseréltük a vízhiány elkerülése és a stabil tápanyagellátás biztosítása érdekében. Minden oldatsere után megmértük és beállítottam a pH-t 5,6-5,7 tartományban, míg az elektromos vezetőképességet (EC) 1,8-2,2 mS cm^{-1} között tartottam (AD1020 pH-mérő és COMBI 5000 EC-mérő).

3.4 A bioimpedancia-mérés kísérleti beállítása a vízhiány és az eltérő nitrogénformák együttes vizsgálatához

A kísérletben a vízhiányt és a különböző N-formákat (NO_3^- , NH_4^+ , illetve egy szerves anyag a gyapjú pellet) együttesen alkalmaztuk, így lehetővé vált az N-formák és vízhiány kölcsönhatásának feltárása. Ennek célja az volt, hogy megítéljük, hogyan módosítja a növény N-ellátottsága a vízhiányra adott BIS-választ, illetve hogy elkülöníthetők-e az egyes N-formákra jellemző, specifikus elektromos mintázatok stresszhelyzetben. A gyapjút mint alternatív N-forrást korábbi vizsgálataim eredményei alapján választottuk ki (Kovács et al. 2024).

A kísérletet az 'ES2217 F₁' uborkahibrid (Orosco Kft., Orosháza, Magyarország) felhasználásával állítottam be, amelyet korábbi vizsgálataink alapján választottuk ki (Kovács et al. 2025a). A magokat 1 literes, talajjal töltött edényekben csíráztattam és neveltem a kísérlet kezdetéig. A kísérlethez felhasznált talaj egy meszes vályog volt, 5,75% CaCO_3 -tartalommal és enyhén lúgos, 7,24 (KCl) pH-val. A talaj szervesanyag-tartalma magas volt (3,82%), és megfelelő makrotápanyag-ellátottsággal rendelkezett: a könnyen felvehető foszfortartalma (AL-oldható) 214 mg/kg, kicserélhető káliumtartalma 423 mg/kg, míg az összes ásványi N

menyisége pedig 32,2 mg/kg volt. A talajtípust az előző kísérleteim alapján választottuk ki (Kovács et al. 2024).

A növényeket fényszobában neveltük 16/8 órás világos/sötét periódus mellett. A fotoszintetikusan aktív sugárzás (PAR) $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ volt. A nappali/éjszakai hőmérsékletet 25 °C-on tartottam, a relatív páratartalom pedig 60-70% között ingadozott. A növényeket szikleveles állapotig desztillált vízzel öntöztük, majd az öntözést feles töménységű Yamazaki-oldattal folytattuk Li et al. (2017) alapján. Az első lomblevelek megjelenése után a növényeket különböző N-formákat tartalmazó kezelésekre osztottuk fel, a módosított Yamazaki-oldat felhasználásával Li et al. (2017) protokolljai szerint (**4. táblázat**).

4. táblázat: Különböző N-formákat tartalmazó tápoldat kémiai összetétele, a Yamazaki-oldat alapján.

	Kezelések			
	NO_3^-	NH_4NO_3 (mM)	WP	CTRL
KNO₃	2,5	0	0	0
Ca(NO₃)₂ · 4H₂O	1,5	0	0	0
NH₄NO₃	0	2,75	0	0
K₂SO₄	1	2,25	2,25	2,25
KH₂PO₄	1	1	1	1
KCl	0,02	0,020	0,020	0,020
MgSO₄ · 7H₂O	0,50	0,50	0,50	0,50
H₃BO₃	0,025	0,025	0,025	0,025
CuSO₄ · 5H₂O	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005
ZnSO₄ · 7H₂O	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
MnSO₄ · 4H₂O	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
(NH₄)₆Mo₇O₂ · 4H₂O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
FeCl₂ · 4H₂O	0,0220	0,0220	0,0220	0,0220

A kísérletben négy N-kezelést alkalmaztunk: NO_3^- kezelést KNO₃ és Ca(NO₃)₂·4H₂O hozzáadásával, ammónium-nitrátkezelést (NH₄NO₃) NH₄NO₃ használatával, gyapjúpellet-kezelést (WP), ahol a N szerves formában, mineralizálódó keratinpelletekből származott, valamint egy N-mentes kontrollt (CTRL), amelyben nem biztosítottuk N-ellátást a hiánytünetek vizsgálatára.

A gyapjúpellet-kezelést a korábbi vizsgálataimban alkalmazott módszer alapján állítottuk be (Kovács et al. 2024). Edényenként 4 g pelletet adagoltunk, ami 0,176 mM ásványi N-t (elsősorban NH₄⁺) és 32 mM szerves N-t biztosított. A pelleték (Agrologica Kft., Magyarország) keratin alapúak voltak (11,2 m/m% szerves N), ammóniumtartalmuk 592 mg/kg, nitrát-N tartalmuk pedig 25 mg/kg volt. A pelleték 10-20 mm hosszúságú, 5 mm

átmérőjű, barnás színű, jellegzetes szagú szemcséket alkottak, amelyek a feldolgozás során 110 °C-on, nagy nyomáson kerültek pelletálásra. Higroszkópos tulajdonságukból adódóan tömegük háromszorosát képesek vízből felvenni. A termék 82% szárazanyag-, 75% szervesanyag-tartalommal rendelkezett, valamint legalább 0,1% összes foszfort és 4,1% káliumot tartalmazott.

Az egyéb tápanyaghiányok megelőzése érdekében minden növény Yamazaki-oldatot kapott. A WP-kezelések esetében az összes tápanyagot a N kivételével biztosítottuk, így kizárólag az eltérő N-formák hatása és a vízhiánnyal való interakció vizsgálható volt.

A cserépkísérletben alkalmazott N-ellátási kísérletet négy kísérleti szakaszba (S1-S4) osztottuk fel. S1-ben (**maximum tápanyagellátás**) a növényeket telítettséig öntöttük teljes erősségű Yamazaki-tápoldattal. Három nappal később indítottuk el az S2 fázist (**korlátozott tápanyagellátás**), amely során a növények ugyanebben a tápoldatban maradtak utántöltés nélkül, így a tápanyagok fokozatosan kimerülhettek, ugyanakkor vízhiány azonban nem lépett fel. Az S3 szakaszban (**szárazságstressz**) a vízellátást további négy napon keresztül korlátoztuk, és a talaj víztartalmát 22%-on tartottuk a COMBI 5000 (STEP Systems, Germany) többfunkciós mérőeszköz segítségével, Yu et al. (2024) módszere alapján. Az S4 fázisban (**rehidratációs fázis**) a talajt visszaállítottuk a szántóföldi vízkapacitásnak megfelelő telítettségi szintre. A BIS- és élettani méréseket minden kísérleti fázis kezdetén végeztük el (0., 3., 6. és 10. nap) (**5. táblázat**).

5. táblázat: A stresszfázisok összefoglalása (S1-S4).

Stressz fázisok	Név	Mérés napja*	Időtartam
S1	maximum tápanyagellátás	0. nap	0-3 nap
S2	korlátozott tápanyagellátás	3. nap	3-6 nap
S3	szárazságstressz	6.nap	6-10 nap
S4	rehidratációs fázis	10.nap	-

*növényélettani és BIS mérések napja

3.5 Alkalmazott növényélettani és talajtani vizsgálati módszerek

3.5.1 Relatív víztartalom (RWC) meghatározása

A relatív víztartalmat (RWC) Karim et al. (2025) módszere alapján határoztuk meg, kezelésenként öt ismétléssel. Minden növényről öt friss levelet választottunk ki, majd meghatároztuk azok friss tömegét (FW). Ezt követően a leveleket desztillált vízbe helyeztük

24 órára a telítési tömeg (SW) meghatározása céljából. Ezután a leveleket 24 órán keresztül szárítószekrényben szárítottuk a száraz tömeg (DW) meghatározásához. Az RWC értéket az alábbi képlet alapján számítottuk:

$$RWC = \frac{FW - DW}{SW - DW} \times 100 \quad (1)$$

3.5.2 Pigmenttartalom és klorofill-fluoreszcencia meghatározása

A klorofill- és karotinoidtartalom meghatározását az alábbiak szerint végeztük. A friss levélszövetből (0,1 g) mintát vettünk, majd azt 3 mL 80%-os acetonnal homogenizáltuk 0,15 g nátrium-karbonát jelenlétében, előhűtött mozsár segítségével. A homogenizált mintát centrifugacsövekbe pipettáztuk, majd a kivonat térfogatát 80%-os acetonnal 10 mL-re állítottuk be. A mintákat $97 \times g$ gyorsuláson, 5 percig centrifugáltuk 4 °C-on. A felülúszót küvetákba pipettáztuk, majd spektrofotometriásan elemeztük. Az abszorbancia értékeket 663, 644 és 480 nm hullámhosszakon határoztuk meg, 80%-os acetont használva vakmintaként.

A pigmentkoncentrációkat (mg/g friss tömeg) az abszorbancia értékek alapján, a Mackinney, (1941) által leírt egyenletek szerint számítottuk, figyelembe véve a végső kivonattérfogatot ($V = 10$ mL) és a minta friss tömegét ($w = 0,1$ g). Az egyenletekben A_{663} , A_{644} , és A_{480} a megfelelő hullámhosszakon mért abszorbancia értékeket jelölik.

$$\text{Klorofill-a} = (12,7 \cdot A_{663} - 2,69 \cdot A_{644}) \cdot \frac{V}{w} \quad (2)$$

$$\text{Klorofill - b} = (22,9 \cdot A_{644} - 4,68 \cdot A_{663}) \cdot \frac{V}{w} \quad (3)$$

$$\text{Teljes klorofill (a+b)} = (20,2 \cdot A_{644} + 8,02 \cdot A_{663}) \cdot \frac{V}{w} \quad (4)$$

$$\text{Karotinoidok} = (5,01 \cdot A_{480}) \cdot \frac{V}{w} \quad (5)$$

A levelek klorofilltartalmának meghatározásához Apogee MC-100 típusú, nem destruktív mérőműszert alkalmaztunk. A mérés során a készülék érzékelőjét közvetlenül a levél felületére rögzítettük, amely a klorofillkoncentrációt abszolút értékben (CCI), $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ egységben jelenítette meg (Padilla et al. 2018).

A klorofill-fluoreszcencia paramétereit hordozható fluorométerrel (FluorPen FP 110-LM/D, Photon Systems Instruments; Drásov, Csehország) határoztuk meg a Li et al. (2024) által leírt protokoll alapján. A mérések előtt az étkezési paprika és az uborka palántákat 30 percig sötétbe adaptáltuk a minimális (F_0) és maximális (F_m) fluoreszcencia alapértékeinek meghatározása érdekében. Ezekből több fotoszintetikus hatékonysági paramétert számítottunk,

beleértve a PSII effektív kvantumhatásfokát [$Y(II)$], az elektronszállítási rátát (ETRII), a fotokémiai kioltást (qP) és a nem fotokémiai kioltást (NPQ). Emellett a PSII maximális fotokémiai hatékonyságát az $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ összefüggés alapján határoztuk meg, míg a tilakoid membrán integritását az F_o/F_m arány segítségével értékeltük.

3.5.3 Összes nitrogén- és nitrát-tartalom meghatározása

Az összes N-tartalmat Kjeldahl-féle roncsolásos módszerrel határoztuk meg (Nelson and Sommers, 1980). Az örölt levélszövetből (0,25 g) mintát vettünk, majd 5 mL tömény H_2SO_4 -ban roncsoltuk Na_2SO_4/Se katalizátor jelenlétében 380 °C-on, amíg az oldat kitisztult. A roncsolás után a mintát 50 mL-re hígítottuk, majd egy 10 mL-es részmintát 1 mL 40%-os NaOH hozzáadásával gőzdesztillációnak vetettünk alá. A felszabaduló NH_3 mennyiségét 0,02 N H_2SO_4 -oldattal titráltuk, és az összes N-tartalmat a szárazanyag tömegére vonatkoztatva, tömegszázalékban (% m/m) fejeztük ki.

A kísérletben használt növények NO_3^- -tartalmát a szalicilsav-kénsav módszerrel határoztuk meg (Hesari et al. 2023). A friss levélszövetből (1 g) mintát vettünk, majd azt 40 mL ioncserélt vízben, Erlenmeyer-lombikban extraháltuk 20 percig 100 °C-on vízfürdőben. Ezt követően a kivonathoz 2 mL Carrez I oldatot (15% $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) és 2 mL Carrez II oldatot (22% cink-acetát) adtunk a fehérjék és egyéb zavaró kolloid anyagok kicsapása céljából. A térfogatot ioncserélt vízzel 50 mL-re egészítettük ki, majd a mintát leszűrtük. Az 5 mL szűrlethez 1 mL 0,5%-os nátrium-szalicilát oldatot adtunk, majd a keveréket 102 °C-on szárazra párologtattuk. A visszamaradt anyagot 1 mL tömény kénsavban oldottuk fel, majd 7 mL 10 M NaOH-oldatot adtunk hozzá, végül a térfogatot ioncserélt vízzel 50 mL-re egészítettük ki. Az erősen savas közegben a nitrát ion a szalicilsav nitrálása révén sárga színű komplexet képezett. Az abszorbanciát 410 nm-en mértük, és a NO_3^- -koncentrációt $NaNO_3$ standard görbe alapján számítottuk ki. A NO_3^- tartalmat mg/g friss tömeg (FW) egységben fejeztük ki.

3.5.4 Apoplasztikus nitrátkoncentráció meghatározása

Az apoplasztikus NO_3^- -koncentrációt a Nikolic et al. (2012) által leírt módszer szerint határoztuk meg. A főér nélküli levéllemezeket jéghideg, pH 5,5-re pufferelt ioncserélt vízzel (5 mM MES/NaOH) vákuuminfiltráltuk, többszöri nyomáscsökkentési és -kiegyenlítési ciklus alkalmazásával, egészen addig, amíg a levéllemezek teljesen elsötétedtek. Az infiltrációt követően a leveleket óvatosan felitattuk, majd műanyag csőre feltekerve, a vágott felületükkel felfelé orientálva 25 mL-es műanyag fecskendőkbe helyeztük. A fecskendőket ezt követően 1 500 g gyorsuláson, 15 percig centrifugáltuk 4 °C-on az apoplasztikus mosófolyadék kinyerése érdekében. A NO_3^- -tartalmat spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg. A kapott NO_3^- -

koncentrációkat a minta friss tömegére vonatkoztatva, $\mu\text{g/g}$ friss tömeg egységben fejeztük ki. Az extracelluláris NO_3^- -koncentráció meghatározását a 'Kobak fajta' esetében végeztük el mind az öt N-kezelésnél (N0-N4).

3.5.5 Antioxidáns aktivitás és összes polifenol-tartalom meghatározása

Az összes polifenol-tartalmat (TPC) Singleton (1981) által leírt módszer szerint határoztuk meg. A mintákat 14 000 fordulat/perc sebességen 10 percig centrifugáltuk, majd a felülúszókban az összes polifenol-tartalmat három ismétlésben, Folin-Ciocalteu reagens alkalmazásával határoztuk meg 765 nm hullámhosszon. A kalibrációs görbét galluszsav standard oldatok felhasználásával készítettük.

Az antioxidáns kapacitást (AC) FRAP módszerrel határoztuk meg a Benzie és Strain (1996) által kidolgozott eljárás alapján, növényi mintákra alkalmazott módszert szerint Ficzek et al. (2025). A fagyasztott levélmintákból (0,2 g) mintát vettünk, majd azt 2 mL 70%-os etanolban homogenizáltuk, ezt követően 14 000 fordulat/perc sebességen 10 percig centrifugáltuk. A felülúszóból 50 μL -t FRAP reagenssel elegyítettünk, majd 5 perc reakcióidő után (23 °C-on) az abszorbanciát 593 nm-en mértük. Minden mintából három ismétlést végeztünk. A kalibrációs görbét aszkorbinsav standard oldatok felhasználásával állítottuk elő.

3.5.6 Membránstabilitási index meghatározása elektrolit-szivárgás alapján

A membránstabilitási indexet (MSI) az elektrolit-szivárgás mérésén alapuló módszerrel határoztuk meg a Khanna-Chopra és Selote (2007) alapján. A levelekből 1 cm^2 felületű korongokat vágunk, majd azokat 20 mL desztillált vízbe helyeztük, és sötétben, szobahőmérsékleten 2 órán keresztül inkubáltuk Czékus et al. (2023) protokollja szerint. Az inkubációt követően a kezdeti elektromos vezetőképességet (C_1) meghatároztuk. Ezt követően a mintákat 95 °C-on 40 percig kezeltük, majd lehűtés után a végső vezetőképességet (C_2) is megmértük. A membránstabilitási indexet (MSI) az alábbi összefüggés alapján számítottuk:

$$MSI(\%) = \left[1 - \left(\frac{C_1}{C_2} \right) \right] \times 100 \quad (6)$$

3.5.7 A növényi biomassa meghatározása

A kísérletek végén mind a saláta fajták, mint pedig az uborka genotípusok esetében meghatároztuk a biomassa mennyiségét. A teljes növényt betakarítottuk, majd tömegét meghatároztuk. A friss biomasszát a betakarítást követően azonnal, analitikai mérlegen mértük. A száraz biomassa meghatározásához a növényi mintákat 105 °C-on szárítottuk szárítószekrényben mindaddig, amíg állandó tömeget nem értünk el. Ezt követően a száraz

tömeget megmértük, és a további értékelésekhez felhasználtuk. Ezen túlmenően a friss és száraz biomassa arányát is kiszámítottuk a Gao et al. (2023) alapján.

3.5.8 A talaj nitrogéntartalmának és pH-értékének meghatározása

Az eltérő N-ellátottság és a szárazságstressz együttes vizsgálata során a kísérlet végén a cserepekből talajmintákat gyűjtöttünk a N-tartalom meghatározása céljából. A friss mintákat +4 °C-on tároltuk Kabalan et al. (2024) protokollja szerint, majd ezt követően határoztuk meg az összes N-tartalmat.

A talaj ásványi N-formáinak meghatározásához 1:5 arányú talaj-0,1 M CaCl_2 szuszpenziót készítettünk, amelyet 60 percig rázattunk. A NO_3^- koncentráció meghatározásához a szűrt kivonat 5 mL-es részletéhez 1 mL nátrium-szalicilát oldatot ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_5$) adtunk, majd a mintát szárazra párologtattuk. A visszamaradt anyagot 1 mL tömény H_2SO_4 -ban oldottuk fel, majd 25 mL desztillált vizet tartalmazó főzőpohárba vittük át. Ezt követően 5 mL 10 M NaOH-oldatot adtunk hozzá, majd a térfogatot desztillált vízzel 50 mL-re egészítettük ki. A keletkezett sárga színű komplexet spektrofotométerrel, 410 nm hullámhosszon határoztuk meg a Monteiro et al. (2003) által leírt módszer szerint.

3.6 Bioimpedancia-spektroszkópiai mérések

3.6.1 A bioimpedancia-mérőműszer jellemzése

A BIS méréseket egy négycsatornás, akkumulátoros táplálású, kifejezetten növényi szövetek vizsgálatára fejlesztett bioimpedancia-analizátorral végeztük, amelynek részletes műszaki leírását korábbi tanulmányok ismertetik (Vizvári et al. 2020; Gyorfi et al. 2023). A négycsatornás mérési módszer felhasználása a mérési hibák és az elektródpolarizáció mérséklését célozta meg (Jinyang et al. 2016).

A kísérletekben használt, egyedileg fejlesztett mérőrendszer egy digitális lock-in elven működő műszer, amelyet korábban Vizvári et al. (2020) és Odry et al. (2021) részletesen bemutatottak. A lock-in technika lényege, hogy a jelfeldolgozás kizárólag a felhasználó által meghatározott referenciafrekvencia szűk környezetére koncentrál, miközben a többi frekvenciakomponenst rendkívül hatékonyan elnyomja. Ennek eredményeként a készülék a jel amplitúdóját és fázisát nagyon alacsony jel-zaj arány mellett is képes pontosan meghatározni. Vizvári et al. (2020) igazolta, hogy a saját fejlesztésű *lock-in* technológiával kombinált négy-elektrodás rendszer a kapacitív és ellenállásértékek rekonstrukcióját olyan pontossággal biztosítja, amely megfelel az alkalmazott fantomok tűréshatárainak (ellenállások: 1%, kapacitások: 5%), és a mérési hiba elérheti akár az ultra-precíziós ellenállások termikus zajszintjét is (1 ppm amplitúdó- és 0,01°

fázispontosság). Ez azt jelenti, hogy a műszer a gyakorlatban minimális mértékben járul hozzá a mérési varianciához, így a regisztrált adatok változásai elsősorban biológiai eredetűek. Jelen munkában ugyanennek a technológiának a növényeken történő *in vivo* alkalmazását valósítottuk meg. A mérési elrendezés az alkalmazott tüelektrodák miatt mechanikai szempontból minimálisan invazívnak tekinthető, ugyanakkor a méréshez alkalmazott alacsony intenzitású váltakozó áram alapján a módszer elektromos szempontból nem destruktív jellegű (Vizvári et al. 2020; Györfi et al. 2023).

A többfunkciós BIS-mérőműszer három különböző mérési üzemmódot tesz lehetővé: (i) frekvenciasöpréses BIS (EIS), (ii) Fast-Fourier transform (FFT) alapú spektrális mérés, valamint (iii) rögzített frekvenciás bioimpedancia-mérés (BIS). A frekvenciasöpréses mérés során a felhasználó kiválasztja a vizsgálni kívánt frekvenciadekádokat és a dekádonként alkalmazandó mérési pontok számát. A készülék ez alapján generálja a mérési frekvenciákat. Az integrált jelgenerátor a beállított paramétereknek megfelelő, monokromatikus szinuszjelet állít elő, amelyet az ingerlő elektrodákon keresztül juttat a mintába. Ezzel párhuzamosan az érzékelő elektrodákhoz kapcsolt mérőrendszer minden egyes frekvenciaponton külön digitális lock-in algoritmust futtat, majd meghatározza a mért jel amplitúdóját és fázisát.

A műszer főbb műszaki jellemzői a következők:

- Monokromatikus szinuszjel 1 mHz-100 kHz tartományban, logaritmikus eloszlással; THD+N elnyomás > 100 dB.
- Excitációs zajszint: legfeljebb $1,5 \mu V_{eff}$.
- Az ingerlő feszültség 0-60 dB között csillapítható; alapbeállítás: 5 V_{pp} (0 dB).
- Az ingerlő áram értéke a bioimpedancia nagyságától függ, legfeljebb 1 mA-ig korlátozva.
- Frekvenciapontok száma dekádonként: 3–100.
- A BIS-adatok amplitúdó- és fázisértékei IEEE 754 szabvány szerinti 64 bites lebegőpontos számítással kerülnek meghatározásra.
- A mérőeszköz 32 bites AD/DA konverterekkel működik.
- A rendszer pontossága: 1 ppm amplitúdó- és $0,01^\circ$ fázispontosság precíziós ellenállásmérésekben.
- A méréshez négy darab 1,0 mm átmérőjű, 5 mm hosszú, 24 karátos arannyal bevont tüelektrodát alkalmaztunk, amelyek a kisfrekvenciás dielektromos mérések érzékenységét jelentősen növelik.

A műszer főbb korlátai a következők:

- legfeljebb 100 kHz-ig végezhető impedanciamérés;
- a lock-in elv miatt a számítási időt a jelgenerátor periódusideje meghatározza;
- akkumulátoros működés (max. 6,5 óra);
- a jelenlegi adatgyűjtő szoftver csak offline kiértékelést tesz lehetővé.

3.6.2 A BIS mérőrendszer validálása Double-Shell fantom segítségével

A BIS-mérőrendszer pontosságának és megbízhatóságának ellenőrzését egy egyedileg összeállított Double-Shell (DBS) fizikai modell (fantom) alkalmazásával végeztük. A fantom ismert, jól definiált paraméterei lehetővé teszik a mérőrendszer hardver és szoftver komponenseinek két szinten történő validálását: (i) a teljes impedanciaspektrum hibáinak meghatározását, valamint (ii) az ekvivalens áramköri modell paramétereinek visszanyerési pontosságának vizsgálatát. A fantom előnye, hogy impedanciaspektruma elméletileg kiszámítható, így a mért impedanciaértékek és az azokból kinyert DBS paraméterek közvetlenül összevethetők a fantom ismert elméleti értékeivel.

A fantom megépítéséhez az alábbi komponensértékeket alkalmaztunk:

- $R_{in}^{(c)} = R_{out}^{(c)} = R_1^{(c)} = 100 \text{ k}\Omega$,
- $C_{in}^{(c)} = C_{out}^{(c)} = 100 \text{ }\mu\text{F}$,
- $R_2^{(c)} = 10 \text{ k}\Omega$,
- $Q_3^{(c)} = 10 \text{ }\mu\text{F}$,
- $R_4^{(c)} = 1 \text{ k}\Omega$,
- $Q_5^{(c)} = 100 \text{ nF}$,
- $\alpha^{(c)} = \beta^{(c)} = 1$.

Az ellenállások toleranciája 1%, a kapacitásoké 5% volt. A fantom célja a DBS modell által szimbolizált ekvivalens áramköri paraméterek és impedanciaspektrum minél pontosabb rekonstrukciójának biztosítása. A tervezés során kiemelt szempont volt, hogy a fantom az eredeti mérési beállítások megváltoztatása nélkül illeszthető legyen a mérőrendszer által alkalmazott elektróda-konfigurációhoz, így a biológiai minta eltávolításával a teljes mérőrendszer önálló validációját teszi lehetővé. A mérőrendszer ellenőrzésére három mérési koncepciót alkalmaztunk. Mindhárom esetben 0,01 Hz és 100 kHz közötti BIS-méréseket végeztünk, azonban a frekvenciafelbontás eltérő volt: 3 pont/dekád, 5 pont/dekád, illetve 10

pont/dekád. Mindegyik beállításnál tíz ismétlést végeztünk a statisztikai értékelhetőség biztosítása érdekében. A fantom validáció első szintje az impedanciaspektrum hibájának meghatározása volt. A frekvenciapontonkénti relatív impedanciahiba a következőképpen számítható:

$$\varepsilon_Z^{(l)} = 100 \cdot \frac{|Z_m^{(l)} - Z_c^{(l)}|}{|Z_c^{(l)}|} \quad (7)$$

ahol,

- $\varepsilon_Z^{(l)}$ a relatív hiba a l -edik frekvenciaponton,
- $Z_m^{(l)}$ az adott frekvenciapont mért impedanciaértékeinek mediánja,
- $Z_c^{(l)}$ pedig az adott frekvenciaponton alkalmazott fantomparaméterekből számított elméleti impedanciaérték.

A validáció második szintjét a DBS paraméterek visszanyert értékeinek értékelése jelentette. A BIS-mérésekből minden esetben külön-külön kivontuk a modellparamétereket, majd meghatároztuk azok relatív hibáját:

$$\varepsilon_k = \frac{|p_k - p_k^{(c)}|}{p_k^{(c)}} \quad (k = 1, 2, \dots, 7), \quad (8)$$

ahol,

- ε_k az k -edik paraméter relatív hibája,
- p_k , DBS paraméterekből kapott mediánértékeiből képzett vektor k -edik eleme
- $p_k^{(c)}$ pedig a fantom elméleti (konstruktív) paramétereit tartalmazó vektor megfelelő eleme.

A paramétervektorok a következők voltak:

$$p = [\alpha, \beta, Q_3, Q_5, R_1, R_2, R_4],$$

$$p^{(c)} = [\alpha^{(c)}, \beta^{(c)}, Q_3^{(c)}, Q_5^{(c)}, R_1^{(c)}, R_2^{(c)}, R_4^{(c)}].$$

A DBS fantom tehát lehetővé tette a mérőrendszer teljes, a biológiai mintától független karakterizálását, mind a spektrális adatok, mind az ekvivalens áramkörü paraméterek rekonstrukciós hibáin keresztül.

3.6.3 Bioimpedancia-mérés beállítása és a növényi sejt elektromos modellje

A BIS méréseket 1 Hz és 100 kHz közötti frekvenciatartományban végeztük. Az arany elektródák alkalmasabbak a biológiai sejtstruktúrák vizsgálatára és az elektropolarizáció csökkentésére (Koklu et al. 2016). A méréseket 25 dB csillapított gerjesztő jeleket alkalmaztunk. Az elektródákat koaxiális kábelekkel csatlakoztattuk a BIS-analizátorhoz négypólusú páros konfigurációban. A különböző kezelésekből származó egészséges, betegségtől mentes leveleket mértünk, minden mérést ötször megismételve. Az elektromos áram erősen függ a vizsgált minta és az elektróda közötti érintkezési felülettől. A mérések nagyfokú reprodukálhatósága érdekében a vizsgált anyag és az elektróda közötti felületnek azonosnak kell lennie, és a levelek nem szakadhatnak el a vizsgálat során (Li et al. 2017). Ezért a négy arany elektródát egymástól azonos távolságra rögzítettük Li et al. (2017) szerint. A négy elektróda közötti távolság (d) 1,5 cm volt. Az érintkezési impedancia csökkentése érdekében kis mennyiségű EKG-gélt (Rextra EKG-gél) kentünk a levél és az egyes elektródák közötti felületre Serrano-Finetti et al. (2023) szerint. A méréseket a levelek főértől távolabbi részén végeztük Meiqing et al. (2016), valamint Li et al. (2017) szerint. Minden mérés után az aranyelektródákat gondosan megtisztítottunk desztillált vízzel a szennyeződések elkerülése érdekében, majd az elektródákat szárazra töröltük.

A BIS méréseket követően az paramétereket numerikus optimalizálással nyertük ki. A műszert a **3. ábra** szerint aranybevonatú tüelektródáin keresztül csatlakoztattuk a növényhez. Ezután 100 kHz és 1 Hz között frekvencia pásztázó mérést végeztünk minden dekádban 5 egyenlően elosztott frekvenciapontban, ami lehetővé tette a frekvenciafüggő potenciálok kinyerését. Az **3. ábrán** látható elrendezés alapján a $Z'(j\omega)$ bioimpedanciát a következőképpen számítottuk ki:

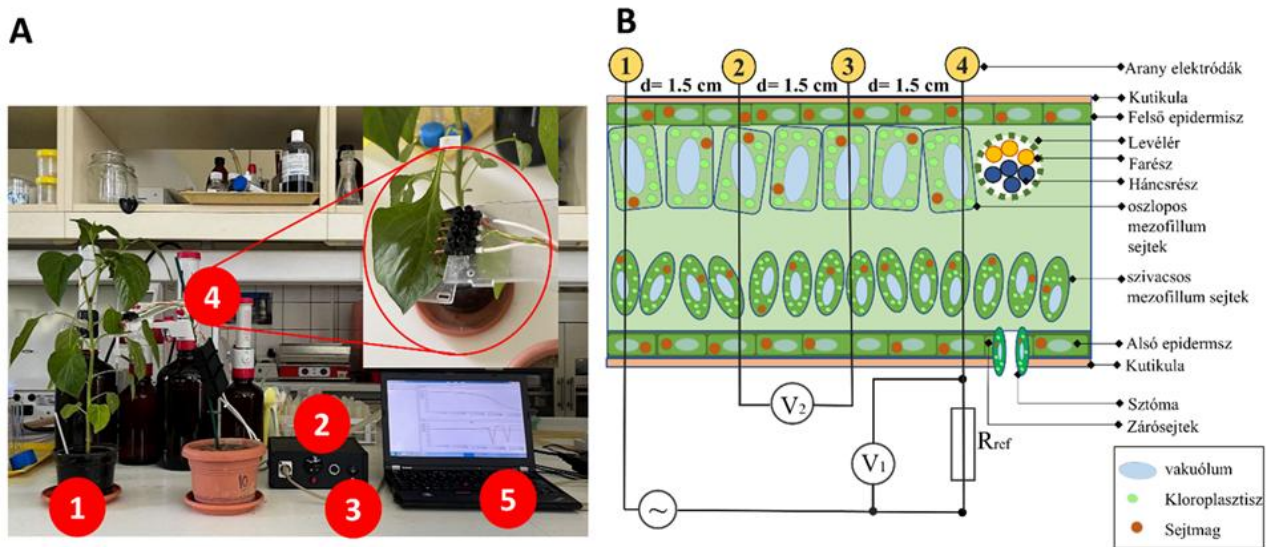
$$Z'(j\omega) = \frac{V_2}{V_1} \cdot R_{ref} = \frac{v_2}{v_1} e^{j(\phi_2 - \phi_1)} \cdot R_{ref}, \quad (9)$$

ahol $V_2 = v_2 e^{j\phi_2}$ és $V_1 = v_1 e^{j\phi_1}$ az elektródák között mért potenciálokat jelöli, míg $R_{ref}=1000\Omega$ a söntellenállást. Ebben a konfigurációban mind az gerjesztő-, mind pedig a mérőjelet differenciális bemenetként alkalmaztunk. Az impedancia valós és képzetes komponenseit ezt követően a következő egyenletek segítségével számítottuk ki:

$$R = |Z| \cos(\phi) \quad (10)$$

$$X = |Z| \sin (\phi) \quad (11)$$

ahol R az ellenállás (Ω), X a reaktancia (Ω), $|Z|$ az impedancia abszolút értéke, és ϕ a fázisszög.



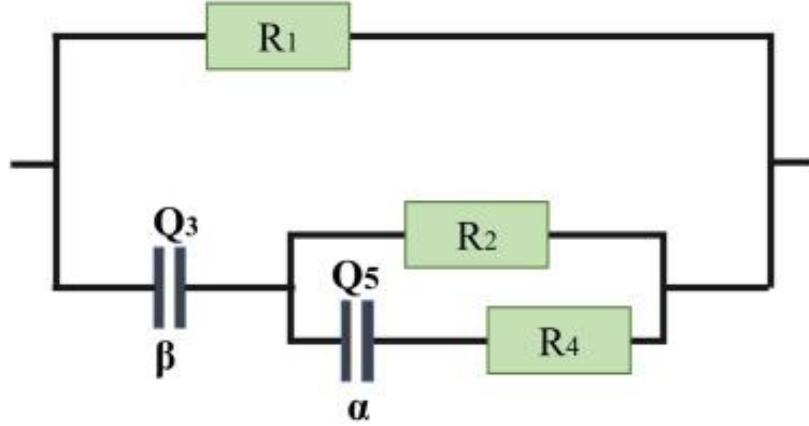
3. ábra: A) A levél bioimpedancia-spektrumának mérésére használt eszköz részletes nézete:

1). Vizsgált növény, 2) Mérőműszer, 3) Mérőkábelek, 4) Arany elektrodák, 5) A mérési eredményeket megjelenítő grafikus felület. **B)** Az elektrodák elhelyezkedése a levél keresztmetszetében és a bioimpedancia-mérés elve.

A BIS-adatok értelmezéséhez a DBS modellt alkalmaztunk (**4. ábra**). Ennek kiválasztását az indokolta, hogy a modell két, egymástól elkülönülő határfelülettel a plazmamembránnal és a tonoplasttal írja le a sejtet, így nemcsak a teljes intracelluláris tér, hanem a vakuólum különálló dielektromos és vezetési tulajdonságai is vizsgálhatók. Ez a megközelítés olyan kísérleti helyzetekben különösen előnyös, ahol a vakuólum térfogata, ionösszetétele vagy membránstabilitása a környezeti stresszekre (például N-hiányra vagy vízhiányra) érzékenyen reagál. A DBS-modell az extracelluláris folyadék ellenállását (R_1), az intracelluláris folyadék ellenállását (R_2), valamint a vakuólum paramétereit (R_4 és Q_5) tartalmazza. Az R_4 a vakuólum ellenállását jelöli, míg a Q_5 a tonoplastot (vakuólum-membránt) jellemző CPE írja le. Ezen felül a Q_3 , egy, a sejtmembrán kapacitív viselkedését leíró CPE-elemet képvisel.

A CPE-hez tartozó α és β paraméterek 0 és 1 közötti értéket vehetnek fel, és azt fejezik ki, hogy az adott membrán mennyire tér el az ideális kondenzátorként viselkedő kapacitástól. Amennyiben α vagy $\beta = 1$, a rendszer ideális kapacitív viselkedést mutat; ha az érték 0-hoz közelít, az erősen diszperzív, nem ideális válaszra utal, amely jellemző például stresszelt vagy strukturálisan heterogén növényi szövetekre (López-Villanueva és Rodríguez Bolívar, 2022).

Double-Shell Model



4. ábra: A Double Shell (DBS) modell ekvivalens elektromos áramköre és a növényi levél leegyszerűsített szerkezeti modellje a DBS-paraméterek alapján. R_1 : extracelluláris folyadék ellenállása, R_2 : intracelluláris folyadék ellenállása, Q_3 : A sejtmembránt jellemző CPE paraméter, R_4 : vakuólumfolyadék ellenállása, Q_5 : A tonoplasztot jellemző CPE paraméter.

A DBS model teljes impedanciája, $Z(j\omega)$, a következőképpen fejezhető ki:

$$Z(j\omega) = \frac{R_1 \left(\frac{1}{(j\omega)^\beta Q_3} + Z_{\text{partial}} \right)}{R_1 + \frac{1}{(j\omega)^\beta Q_3} + Z_{\text{partial}}}, \quad \text{ahol} \quad Z_{\text{partial}} = \frac{R_2 \left(R_4 + \frac{1}{(j\omega)^\alpha Q_5} \right)}{R_2 + R_4 + \frac{1}{(j\omega)^\alpha Q_5}}. \quad (12)$$

A (12) egyenletben az ω a körfrekvenciát jelöli, míg $j = \sqrt{-1}$ az imaginárius egység. Továbbá az $\alpha \in (0,1]$ és $\beta \in (0,1]$ paraméterek a CPE-elemeket mutatják be. A CPE_5 elem impedanciája az alábbi összefüggéssel adható meg: $Z_{CPE_5} = 1/((j\omega)^\alpha Q_5)$, amely a Q_5 kondenzátor impedanciájának CPE-alapú leírását adja. Hasonlóképpen, a CPE_3 elem impedanciája: $Z_{CPE_3} = \frac{1}{(j\omega)^\beta Q_3}$, amely a Q_3 kondenzátor impedanciájának relaxációját írja le CPE-alapú megközelítésben. Az α és β paraméterek további rugalmasságot biztosítanak az impedanciaspektrum leírásában, mivel lehetővé teszik a nem ideális kapacitású membránok modellezését, amelyek az egyes folyadéktartományokat választják el egymástól (Odry et al. 2021).

A sejtmembrán- és vakuólkapacitásra vonatkozó növénybiológiai következtetéseket (Ando et al. 2014; Meiqing et al. 2016; Jinyang et al. 2016; Li et al. 2017; Serrano-Finetti et al. 2023) az alábbi egyenletek alapján számoltuk ki:

$$\tau_1 = \sqrt[\alpha]{R_1 Q_3} \quad (13)$$

$$C_m = \frac{\tau_1}{R_1} \quad (14)$$

$$\tau_2 = \sqrt[\beta]{R_2 Q_5} \quad (15)$$

$$C_t = \frac{\tau_2}{R_2} \quad (16)$$

A sejtmembrán kapacitás (C_m) és tonoplaszt kapacitás (C_t) értékeknek megfelelő időállandókból számíthatók ki (τ_1 és τ_2).

A fenti modellekben az egyes szöveti komponensek elektromos tulajdonságait, azaz azok vezetőképességét és kapacitív viselkedését az ekvivalens áramkör ohmos ellenállásai és kapacitásai reprezentálják. Ennek következtében a modellparaméterek közvetlen kapcsolatban állnak a szövetek szerkezeti és funkcionális jellemzőivel, így azok alkalmasak a sejszintű szerkezeti változások, illetve élettani állapotváltozások nyomon követésére is.

3.6.4 Metaheurisztikus optimalizáláson alapuló impedancia-paraméterkivonás

A DBS modell paramétereit numerikus optimalizációs eljárással határoztuk meg, egy egyedi fejlesztésű, többcélú költségfüggvényt alkalmazva. Az optimalizációs eljárás főbb elemeit az **6. táblázat** foglalja össze, amely egy részecske-raj-optimalizációs (PSO) algoritmuson alapul. A költségfüggvény célja a mért és a szimulált impedanciaspektrumok közötti relatív hiba minimalizálása volt, miközben egy regularizációs tag segítségével a paraméterek ingadozását is büntette, ezáltal növelve a becslés stabilitását.

6. táblázat: A DBS modell paraméterbecsléséhez alkalmazott numerikus optimalizáció főbb elemei.

Komponens	Leírás
Impedancia modell	DBS
Optimalizált paraméterek	$R_1, R_2, C_3, R_4, C_5, \alpha, \beta$
F_1 – relatív hibatag	$F_1 = \frac{1}{N} \sum_i^N \left \frac{Z_i - Z'_i}{Z'_i} \right $
F_2 – Paraméter-regularizáció	$F_2 = \frac{R_1}{10^5} + \frac{R_2}{10^5} + \frac{R_4}{10^5} + \frac{Q_3}{10^{-6}} + \frac{Q_5}{10^{-10}} + \alpha + 0.4 - \beta $
Költségfüggvény	$F = F_1 + F_2$
Frekvenciapontok száma (N)	50 (10 pont/dekád, 1 Hz – 100 kHz)
Optimalizációs algoritmus	PSO
Populációméret	2000 részecske
Generációk száma	400 generáció
Inerciasúly (ω)	0,9
Kognitív/szociális paraméterek (c_1, c_2)	$c_1 = 0,5, c_2 = 1,5$
Véletlen tényezők (r_1, r_2)	$r_1 \in [0,1], r_2 \in [0,1]$
Szoftverkörnyezet	MATLAB R2023a + (psomatlab, 2024)
Hardver	Intel Xeon W-2245 @ 3.9 GHz, 32 GB RAM
Számítási idő/spektrum	~4–5 perc
Konvergencia kritérium	Nem alkalmaztunk (fix iterációszám)

A kezdeti paraméterértékeket és a vizsgált paramétertartományokat az **7. táblázat** második és harmadik oszlopa tartalmazza. Az inicializálást a szakirodalomban közölt eredmények alapján

állítottuk be (Ghoneim et al. 2022). A táblázat tartalmazza mind a hét modellparaméter ($R_1, R_2, C_3, R_4, C_5, \alpha, \beta$) kezdeti értékeit, valamint alsó és felső határait.

7. táblázat: Optimalizált paraméterek: inicializálás és a használt tartományok.

Paraméter	Kezdeti érték	Tartomány
$R_1 (\Omega)$	$5 \cdot 10^6$	$[1 \cdot 10^{-3}, 10 \cdot 10^6]$
$R_2 (\Omega)$	$5 \cdot 10^6$	$[1 \cdot 10^{-3}, 10 \cdot 10^6]$
$Q_3 \left(\frac{F}{s^{1-\beta}} \right)$	$15 \cdot 10^{-6}$	$[1 \cdot 10^{-14}, 1 \cdot 10^{-3}]$
$R_4 (\Omega)$	$5 \cdot 10^6$	$[1 \cdot 10^{-3}, 10 \cdot 10^6]$
$Q_5 \left(\frac{F}{s^{1-\alpha}} \right)$	$15 \cdot 10^{-6}$	$[1 \cdot 10^{-14}, 1 \cdot 10^{-3}]$
α	0.5	$[1 \cdot 10^{-3}, 1.0]$
β	0.5	$[1 \cdot 10^{-3}, 1.0]$

3.6.5 Statisztikai kiértékelés

A növényélettani paraméterek és a BIS-paraméterek statisztikai kiértékelését az R 4.2-es verziójában végeztük el, a következő csomagok felhasználásával: *lm* (Elzhov et al. 2016), *apaTables* (Stanley és Stanley, 2018), *olsrr* (Hebbali és Hebbali, 2017), *ggcorrplot* (Kassambara és Kassambara, 2019), valamint a *stats* (Kolde et al. 2022) és *lattice* (Zuur et al. 2009) csomagok. Az ábrák elkészítéséhez a *ggplot2* (Wickham, 2011) csomagot használtuk.

A kezelések hatását többtényezős varianciaanalízis (MANOVA) segítségével vizsgáltuk, Wilks-féle λ alapján. A kovariancia-mátrixok homogenitását Box-féle M próbával, míg a normalitást a MANOVA-modell rezidumaira Shapiro-Wilk próbával ellenőriztük ($p < 0,05$). A varianciahomogenitást Levene-teszt segítségével vizsgáltuk. A hatásméretek parciális eta-négyzettel (η^2) becsültük (Levine és Hullett, 2002). A hipotézisvizsgálatokat 0,05 szignifikanciaszinten ($\alpha = 0,05$) végeztük. A statisztikai tesztek során kapott p -értékek alapján döntöttünk a nullhipotézis elutasításáról. Lineáris regressziós modellek esetében a meredekség becslésekhez 95%-os konfidencia-intervallumokat (CI) számítottunk, amelyek a paraméterbecslések bizonytalanságát és a kapcsolat megbízhatóságát jellemezték. Szignifikáns hatás esetén a csoportátlagok összehasonlítását Tukey-féle post hoc teszttel végeztük ($p < 0,05$).

A BIS-paraméterek prediktív képességét a korai N-hiány elkülönítésére Receiver Operating Characteristic (ROC) analízissel értékeltük. Az egyes változókhoz logisztikus regressziós modelleket illesztettünk, majd meghatároztuk az AUC (Area Under the Curve) értékeket. Az optimális küszöbértéket minden változó esetében a Youden-index alapján határoztuk meg (szenzitivitás + specificitás -1) (Youden, 1950).

A növényélettani és a BIS- paraméterek közötti kapcsolatot Pearson-féle korrelációval vizsgáltuk. Az egyes adathalmazokra vonatkozóan leíró statisztikai mutatókat, így átlagot, szórást (SD) és variációs koefficiens (CV) számítottunk, és ezeket táblázatos formában összesítettük. A CV értékeket a különböző modellek (ZFIT/DS, PSO/DS/F1, PSO/DS/F12) és adathalmazok (Adatkészlet 1, 2, 3) közötti variabilitás összehasonlítására használtuk.

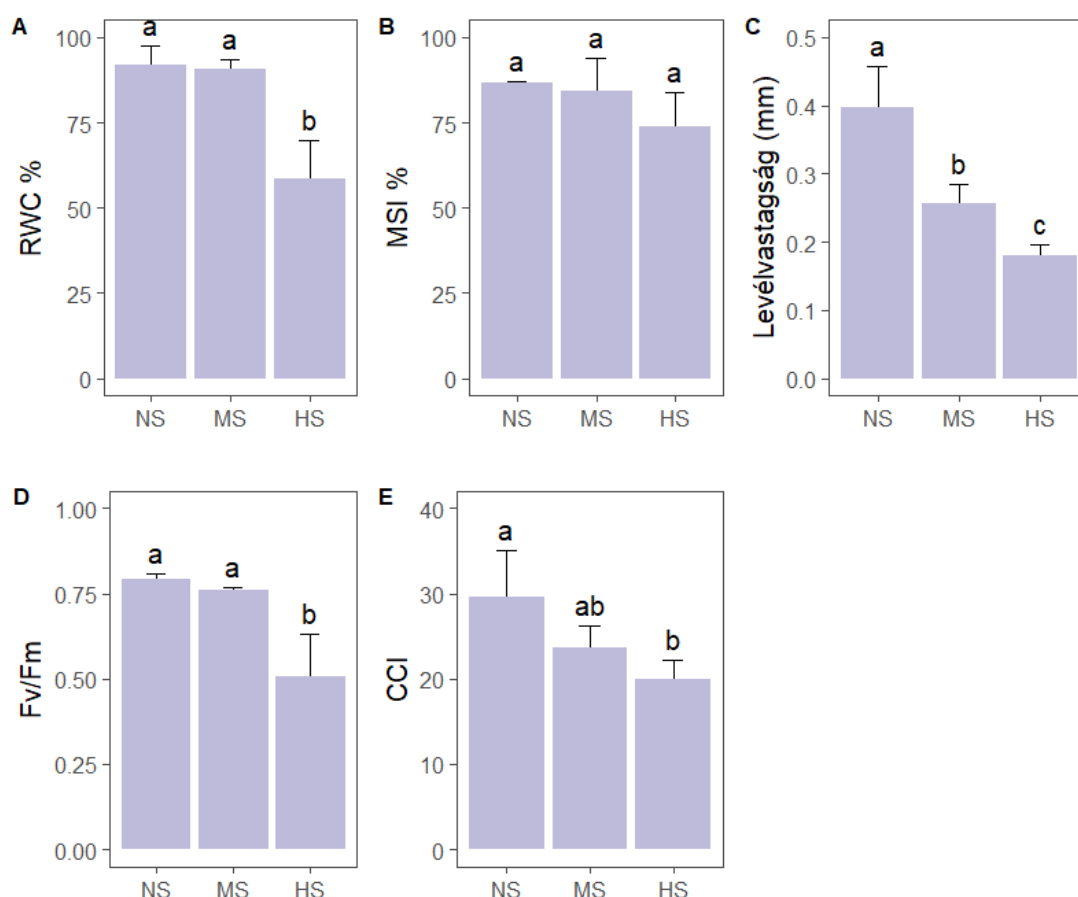
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSA

4.1 A vízstressz és levélszáradás hatásának vizsgálata bioimpedancia-alapú megközelítéssel

Első lépésként azt vizsgáltuk meg, hogy a vízhiány önállóan hogyan befolyásolja a BIS paramétereit. Második lépésként a BIS-adatok értelmezésére alkalmazott két modellillesztési eljárás, a ZFIT és a PSO-alapú optimalizáció teljesítményét hasonlítottuk össze a paraméterek stabilitása és élettani értelmezhetősége szempontjából.

4.1.1 A vízstressz hatása a növényélettani paraméterekre

A különböző mértékű vízstressz eltérő hatást gyakorolt a növényélettani paraméterekre. A legalacsonyabb RWC értéket a nyolc napig nem öntözött növények esetében mértük, amely statisztikailag szignifikáns különbséget mutatott mind a mérsékelten stresszelt, mind a kontroll növényekhez képest ($p < 0,05$). Az MSI hasonló tendenciát követett. A legalacsonyabb MSI értéket szintén a nem öntözött növényeknél figyeltük meg, azonban a Tukey-féle post hoc teszt alapján a kezelések között nem volt szignifikáns különbség ($p > 0,05$). Szignifikáns különbség volt kimutatható a levélvastagság esetében is. A legmagasabb levélvastagság értéket a jól öntözött kontroll növények mutatták, amelyet a mérsékelten stresszelt növények követtek, míg a legalacsonyabb értéket a nem öntözött növényeknél mértük. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a CCI és az F_v/F_m arány esetében is. A súlyos vízstressznek kitett növényeknél az F_v/F_m arány szignifikánsan eltért mind a kontroll, mind a mérsékelten stresszelt növények értékeitől ($p < 0,05$). A legmagasabb CCI értéket a kontroll növényeknél, míg a legalacsonyabbat a vízstressznek kitett növényeknél mértük (**5. ábra**).



5. ábra: A kezelések hatása a növényélettani paraméterekre. **A)** RWC: relatív víztartalom (%), **B)** MSI: membránstabilitási index(%), **C)** Levélvastagság (mm), **D)** F_v/F_m : a PSII maximális kvantumhatásfoka **E)** CCI: klorofilltartalom-index). Az értékek négy ismétlés átlagai $\pm$ szórást (SD) mutatják. Az oszlopok felett eltérő betűk a Tukey-féle post hoc teszt alapján szignifikáns különbséget jeleznek ($p < 0,05$). (NS: normál vízellátottságú, MS: közepes vízstressz, HS: erős vízstressz).

4.1.2 A vízstressz hatása a bioimpedancia-paraméterekre és modellezésük összehasonlítása

A BIS- modellezésének összehasonlítása során négy különböző illesztési eljárást vizsgáltunk: a Hayden-modell Zfit-alapú illesztését (**ZFIT/H**), a Double Shell modell Zfit-alapú illesztését (**ZFIT/DS**), valamint a Double Shell modell PSO-alapú illesztését hagyományos (**PSO/DS/F1**), illetve a jelen munkában javasolt kombinált minimalizációs függvénnel (**PSO/DS/F12**). Az elemzést három különálló adatkészleten végeztük el a **3.1 fejezetben** bemutatott adatok felhasználásával: Adatkészlet 1 ($n = 60$), Adatkészlet 2: ($n = 65$), Adatkészlet 3 ($n = 105$).

A különböző modellek stabilitásának értékelésére a paraméterek variációs együtthatóját (CV) hasonlítottuk össze három adatkészletben (Adatkészlet 1-3), négy különböző modell

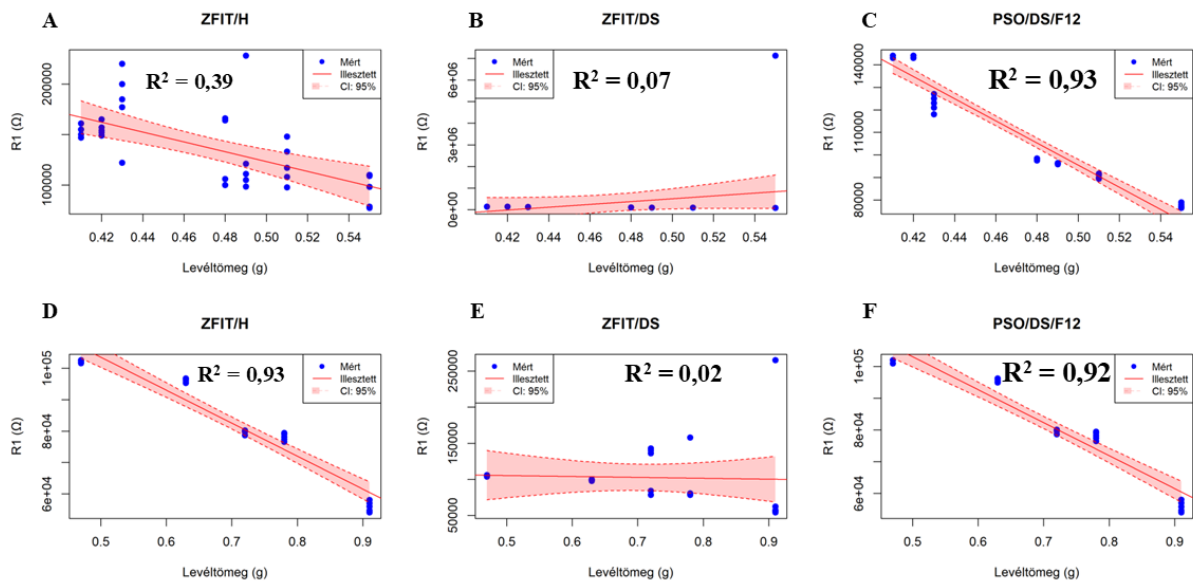
alkalmazásával (ZFIT/H, ZFIT/DS, PSO/DS/F1 és PSO/DS/F12). A ZFIT/H modell a kisebb számú paraméter miatt alacsonyabb CV értékeket mutatott. A DBS modellek közül a PSO/DS/F12 modell bizonyult a legstabilabbnak, amely következetesen alacsonyabb variabilitást mutatott. Ezzel szemben a PSO/DS/F1 modell esetében több paraméter is rendkívül magas CV értékeket mutatott, ami a modell instabilitására utal. A ZFIT/DS modell köztes viselkedést mutatott, mérsékelt variabilitással, azonban egyes paraméterek esetében kiugróan magas szórás volt megfigyelhető. Az Adatkészlet 1 esetében a PSO/DS/F12 modell alacsonyabb CV értékeket mutatott szinte mindegyik BIS-paraméter esetében. A ZFIT/DS modell közepes variabilitást mutatott, különösen a β és egyes ellenállási paraméterek esetében, míg a PSO/DS/F1 modellnél több paraméter extrém magas CV értékeket ért el (**Függelék 1. ábra**). Hasonló tendencia volt megfigyelhető az Adatkészlet 2 és 3 esetében is, ahol a PSO/DS/F12 modell minden esetben a legalacsonyabb variabilitást mutatta a DBS modellek között, míg a PSO/DS/F1 modell bizonyult a legkevésbé stabilnak. Ugyanakkor bizonyos paraméterek esetében a PSO/DS/F12 modellnél is megfigyelhető volt emelkedett variabilitás (**Függelék 2–3. ábra**).

A modellstabilitás önmagában nem elegendő a modellek élettani relevanciájának megítéléséhez, ezért a továbbiakban a BIS-paraméterek és a növényélettani változók közötti kapcsolatot is vizsgáltuk. Mivel a levéltömeg csökkenése elsősorban az extracelluláris víztartalom csökkenésével függhet össze (Serrano-Finetti et al. 2023), feltételezhető szoros kapcsolat a levéltömeg és az R_1 ellenállása között.

A ZFIT/H modell esetében az óránkénti mérések nem mutattak konzisztens kapcsolatot a levéltömeg és az R_1 ellenállása között ($R^2 = 0,39$; $p < 0,001$), míg a háromóránkénti mérés során már szignifikáns negatív kapcsolat volt kimutatható ($R^2 = 0,93$; $p < 0,001$). Ezzel szemben a ZFIT/DS modell esetében sem az óránkénti, sem a háromóránkénti mérések nem mutattak szignifikáns összefüggést.

A PSO/DS/F12 modell esetében mind az óránkénti, mind a háromóránkénti mérések során erős és szignifikáns negatív korreláció volt kimutatható a levéltömeg és az R_1 ellenállás között ($R^2 = 0,92-0,93$; $p < 0,001$). Ez azt jelzi, hogy ez a modell megbízhatóbban írja le az extracelluláris víztartalom változásait. Az eredmények alapján a PSO/DS/F12 modell nemcsak alacsonyabb variabilitást mutat, hanem élettani szempontból is megbízhatóbb kapcsolatot biztosít a BIS-paraméterek és a növény vízállapota között (**6. ábra**). Eredményeinket erősíti, hogy a levél víztartalmának csökkenésével párhuzamosan az impedancia növekedése jól dokumentált

jelenség, amely a növényi szövetek dielektromos tulajdonságainak változásával magyarázható. A magasabb víztartalmú szövetek jobb elektromos vezetőképességet mutatnak, míg a vízvesztés következtében csökken az ionmobilitás, ami az ellenállás növekedéséhez vezet (Jamaludin et al. 2015; Zheng et al. 2015; Nouaze et al. 2022; Serrano-Finetti et al. 2023). A vízstressz korai fázisában elsősorban az extracelluláris víztartalom csökken, mivel ez a frakció szabadabban mobilizálható, mint az intracelluláris vízkészlet (Serrano-Finetti et al. 2023). Ennek következtében az R_1 ellenállás növekedése közvetlen indikátora a vízhiánynak, amit korábbi tanulmányok is alátámasztanak (Tomkiewicz és Piskier, 2012; Basak et al. 2020b; Nouaze et al. 2022; Serrano-Finetti et al. 2023; Zhou et al. 2025). Ezzel összhangban a PSO/DS/F12 modell esetében megfigyelt erős negatív korreláció a levéltömeg és az R_1 ellenállás között azt jelzi, hogy ez a modell képes megbízhatóan leképezni az apoplasztikus vízvesztés dinamikáját. Ezzel szemben a ZFIT/DS modell esetében tapasztalt szignifikáns összefüggések hiánya nagy valószínűséggel a DBS paraméterek magas variabilitásával magyarázható, amely elfedi a biológiailag releváns összefüggéseket. A magas variációs együtthatók által bevezetett zaj csökkenti a modell érzékenységét a vízstressz által indukált finom élettani változások detektálására.



6. ábra: Az extracelluláris folyadék ellenállása (R_1) és a mért levéltömeg közötti kapcsolat különböző modellek alkalmazásával. **A)** ZFIT/H (óránkénti tömegcsökkenés), **B)** ZFIT/DS (óránkénti tömegcsökkenés), **C)** PSO/DS/F12 (óránkénti tömegcsökkenés), **D)** ZFIT/H (háromóránkénti tömegcsökkenés), **E)** ZFIT/DS (háromóránkénti tömegcsökkenés), **F)** PSO/DS/F12 (háromóránkénti tömegcsökkenés).

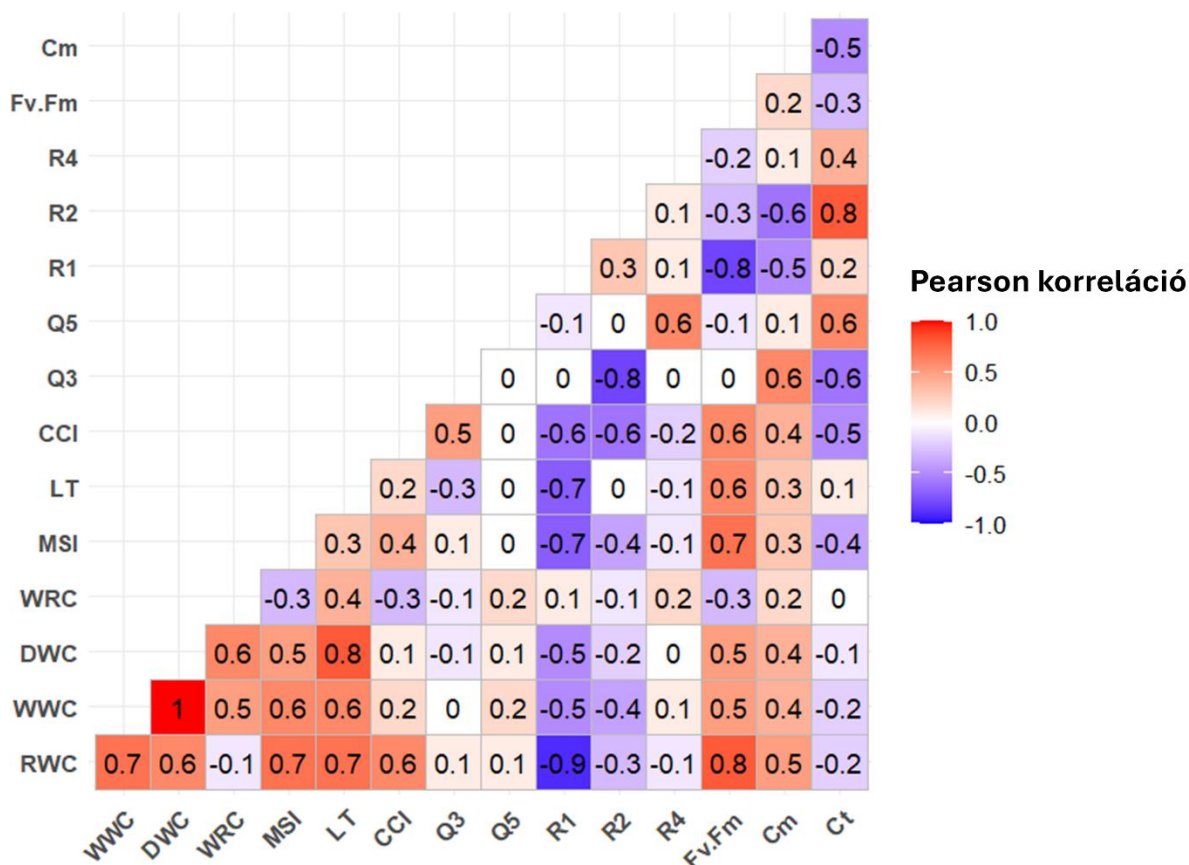
Ezt követően a BIS-paraméterek és a növényélettani paraméterek közötti összefüggéseket a PSO/DS/F12 modell alapján vizsgáltuk tovább, mivel a modell a fitness függvény és a

paraméterstabilitás alapján a legmegbízhatóbbnak bizonyult. Az RWC és az R_1 ellenállás között szignifikáns negatív korreláció volt kimutatható ($r = -0,90$). Továbbá a levél víztartalma erősen befolyásolta az impedanciát: a vízhiány növekedését az impedancia emelkedése kísérte. Ez összhangban áll Jamaludin et al. (2015) eredményeivel, akik kimutatták, hogy a csökkenő víztartalmú *L. pumila* levelek impedanciája nőtt. Mivel a magasabb relatív víztartalom nagyobb víztartalmat jelez (Chen et al. 2019), egyértelmű, hogy a levélimpedancia súlyos vízstressz alatt jelentősen növekedni fog. Hasonló tendenciát írtak le Basak et al. (2020b), valamint Garlando et al. (2020), akik 10 kHz-en is kimutatták a vízstressz okozta impedanciaváltozást (bár tűelektródákkal és szármintákon). Bar-On és Shacham-Diamand (2021) szintén az impedancia növekedését figyelték meg a növény tömegének csökkenésével párhuzamosan. Zheng et al. (2015) pedig erős kapcsolatot mutattak ki a kukoricalevelek relatív víztartalmával és elektromos tulajdonságai között.

A levélvastagság csökkenése szintén az R_1 ellenállás növekedéséhez vezetett, ami összhangban áll Jamaludin et al. (2015) megfigyeléseivel. A CCI és az F_v/F_m arány is szignifikáns negatív korrelációt mutatott az R_1 ellenállással, ami a fotoszintetikus apparátus vízhiányra adott válaszával magyarázható. Az R_1 és az MSI között negatív korrelációja azt jelzi, hogy a vízhiányból fakadó membránkárosodás növeli az ellenállást (Vanaja, 2015).

Az R_2 ellenállás esetében a víztartalommal mutatott kapcsolat gyengébb volt. Ennek oka lehet az intracelluláris és extracelluláris terek keveredése membránkárosodás esetén, ami az R_2 becslésének bizonytalanságát növeli (Serrano-Finetti et al. 2023). Nem mutatkozott szignifikáns korreláció az R_4 ellenállás és a relatív víztartalom között, amit Nouaze et al. (2022) eredményei is megerősítettek: a sejtvíztartalom csökkenése és a vakuólumot reprezentáló R_4 ellenállás között nem igazolható szoros kapcsolat.

A C_m és az relatív víztartalom közötti pozitív korreláció azt jelzi, hogy tartós vízhiány alatt a sejtmembrán dielektromos tulajdonságai romlanak. A C_m és az relatív víztartalom közötti összefüggés ($r = 0,5$, $p < 0,05$), valamint az membránstabilitási index és relatív víztartalom közötti szoros kapcsolat ($r = 0,7$, $p < 0,001$) megerősíti a membránstabilitás meghatározó szerepét a vízhiányban. A membránstabilitási index jól ismert vízstressz-indikátor, amely az elektrolitszivárgáson keresztül tükrözi a membránok sérülését (Dwivedi et al. 2018). Mivel a membránkárosodás a dielektromos tulajdonságokat is módosítja, a C_m változása egyértelműen jelzi a vízhiány okozta szerkezeti átrendeződést (Azzarello et al. 2012). A növényélettani és BIS-paraméterek közötti korrelációkat a **7. ábra** foglalja össze.



7. ábra: Az impedancia és a növényélettani paraméterek közötti korrelációs mátrix.

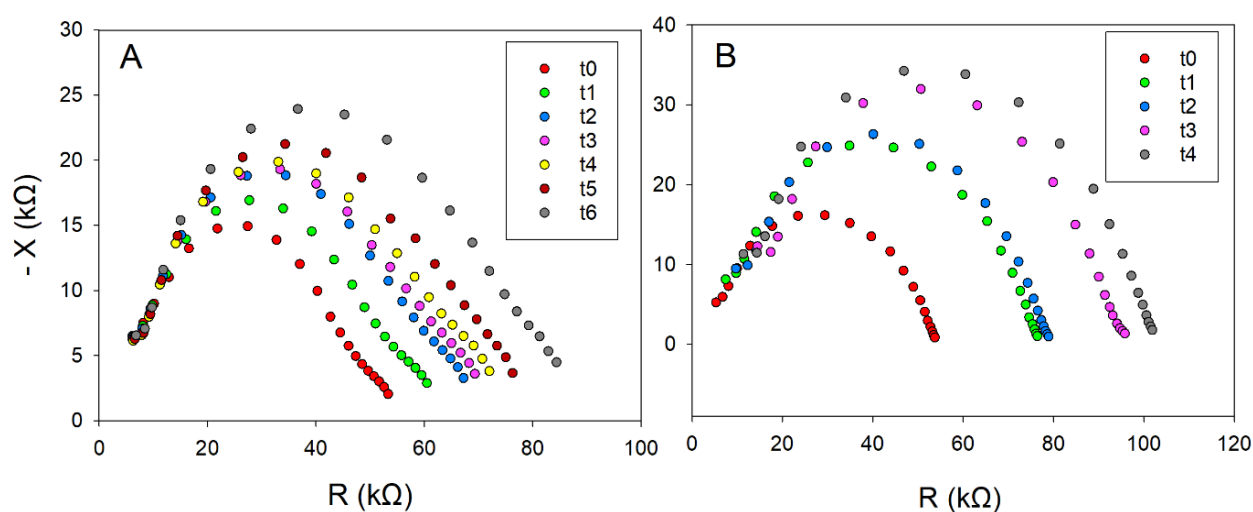
R_1 : extracelluláris folyadék ellenállása, R_2 : intracelluláris folyadék ellenállása, Q_3 : A sejtmembránt jellemző CPE paraméter, R_4 : vakuólumfolyadék ellenállása, Q_5 : A tonoplasztot jellemző CPE paraméter, C_m : sejtmembrán kapacitása, C_t : vakuólummembrán kapacitása, RWC: Relatív víztartalom, WWC: víztartalom nedves tömeg alapa vonatkoztatva, DWC: víztartalom száraz tömeg alapa vonatkoztatva, CCI: klorofill koncentrációs index, LT: levélvastagság, MSI: membrán stabilitási index, Fv/Fm : PSII fotokémiai hatékonysága).

Továbbá megvizsgáltuk a óránkénti és a háromóránkénti levélszáradás hatását a BIS-paraméterekre. A száradási kísérlet során a levélimpedancia a víztartalom csökkenésével párhuzamosan növekedett (8. ábra A, B), és a spektrumgörbék az alacsonyabb frekvenciák irányába tolódtak el. Ez a jelenség összhangban áll azzal, hogy a magas víztartalmú szövetek jobb vezetőképességgel és nagyobb dielektromos állandóval rendelkeznek, míg a dehidratáció mindkét tulajdonságot jelentősen rontja (Jamaludin et al. 2015; Zheng et al. 2015).

A vízvesztés következtében az R_1 ellenállás folyamatosan emelkedett, ami azzal magyarázható, hogy a szabad víz elsősorban az apoplasztból távozik, így az ionmobilitás jelentősen csökken ebben a térben (Serrano-Finetti et al. 2023). Az R_2 értéke a száradás során bizonytalan változást mutatott; ez jól értelmezhető a membránkárosodás és az intra- és extracelluláris terek keveredésének tudható be, amely rontja a modell illeszthetőségét (Ando et al. 2014).

A vakuólumot reprezentáló R_4 ellenállás a száradás alatt alig változott. Ez összhangban áll azzal, hogy a vakuólum nagy víztartalma és ozmotikus pufferekapacitása miatt a vízvesztés elsődlegesen nem ezt a kompartmentet érinti, így ellenállása stabil marad (Nouaze et al. 2022).

Összességében a száradás egyértelműen növelte az impedanciát, csökkentette a C_m értékét, és legerőteljesebb hatását az R_1 ellenállásban lehetett detektálni. Ezek az eredmények megerősítik, hogy az apoplasztikus tér vezetőképessége a vízhiányra legérzékenyebb BIS-paraméter, és a membrán dielektromos válasza (C_m) korai indikátora a dehidratáció okozta szerkezeti károsodásnak.



8. ábra: **A)** Az óránkénti száradás során rögzített impedanciaadatok Nyquist-diagramjai. **B)** A háromórás száradás során rögzített impedanciaadatok Nyquist-diagramjai. Az x tengely a valós impedancia komponensét (R , $k\Omega$), míg az y tengely a képzetes impedancia komponensének ($-X$, $k\Omega$) ábrázolja.

Összességében megállapítható, hogy a PSO/DS/F12 modell nemcsak statisztikai értelemben stabilabb, hanem képes reprodukálni a vízstresszhez kapcsolódó élettani folyamatokat is, beleértve az extracelluláris vízvesztést, a membránkárosodást és a dielektromos tulajdonságok változását.

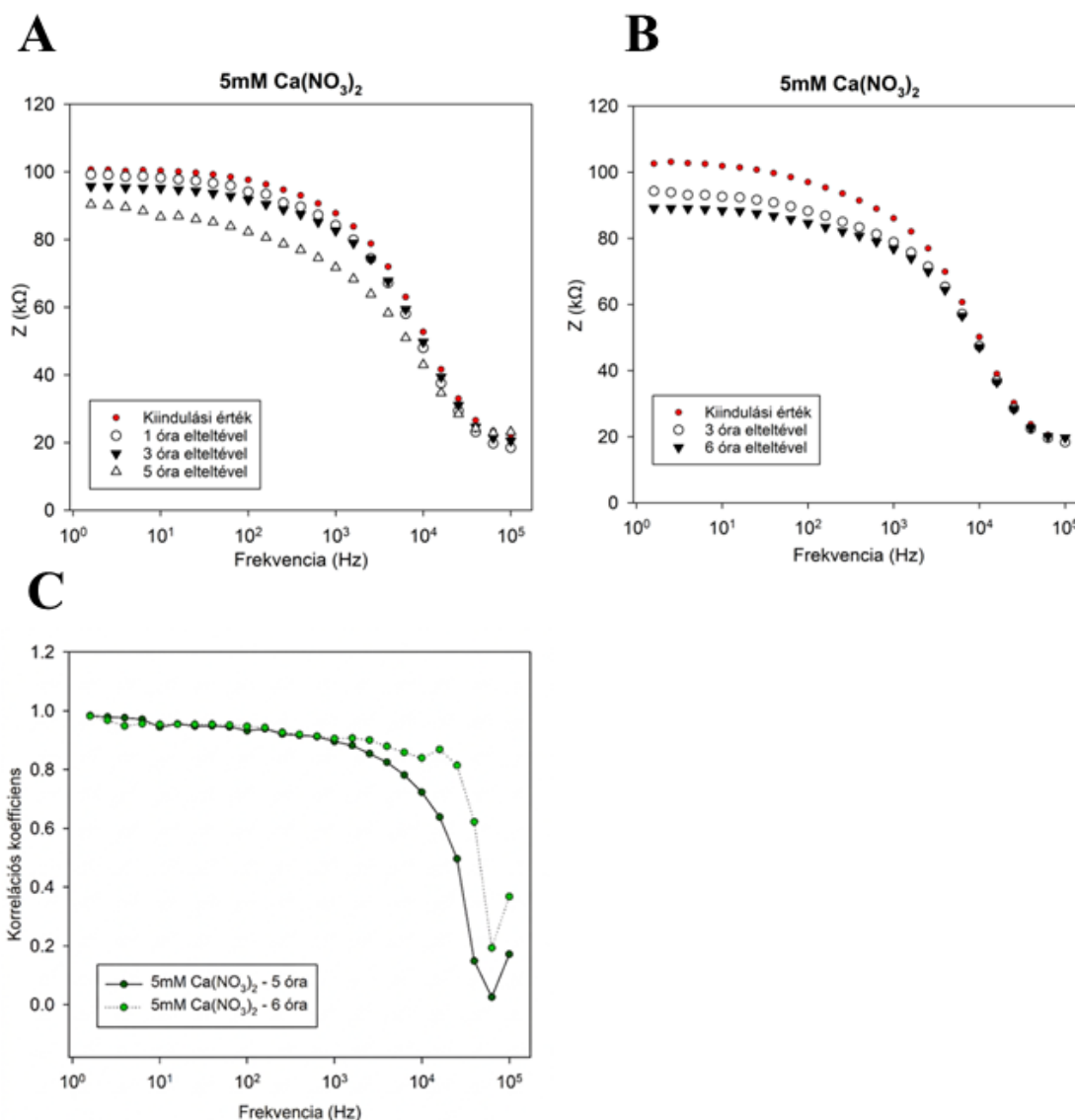
4.2 A bioimpedancia-paraméterek és növényélettani mutatók alakulása eltérő nitrogénellátottsági szintek mellett

4.2.1 Eltérő nitrogénellátottsági szintek hatása a bioimpedancia- és növényélettani paraméterekre két salátafajtában

A következőkben először a NO_3^- ellátás rövid távú változásaira adott BIS-válaszokat mutatjuk be, mivel ezek szolgáltatták az alapot a későbbi, hosszabb távú N-kezelések értelmezéséhez és a DBS-paraméterek fiziológiai jelentésének megalapozásához.

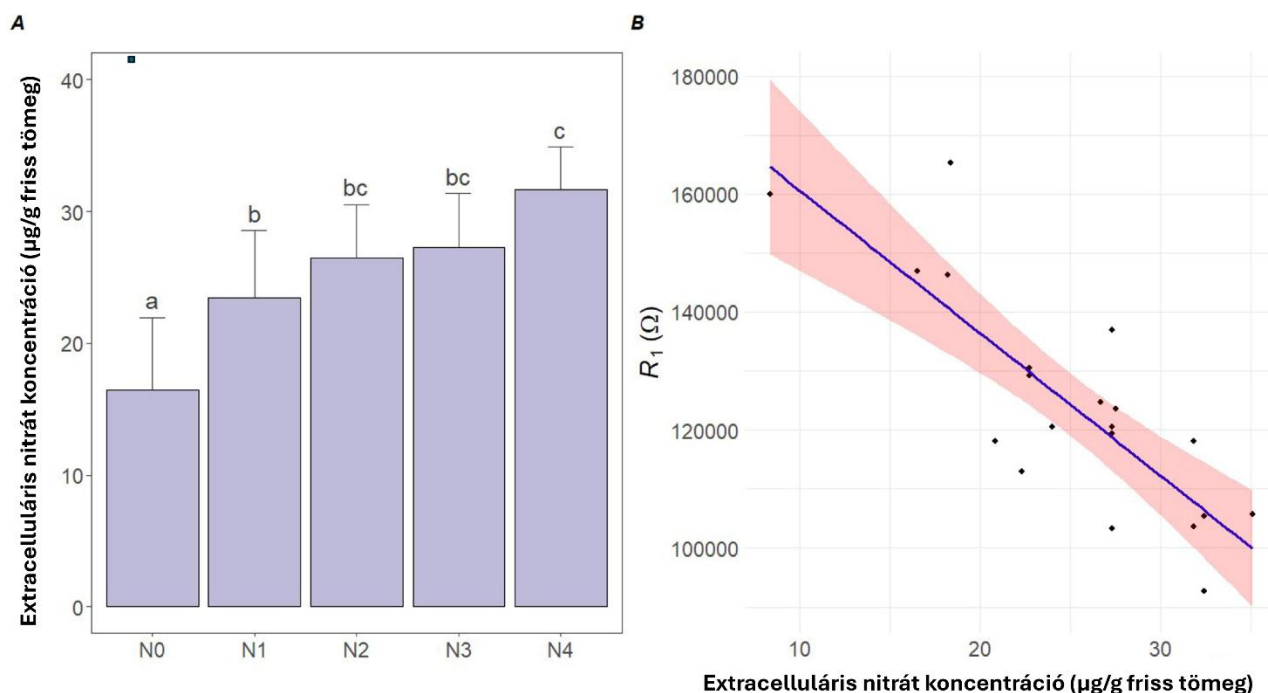
A kezdeti eredmények azt mutatták, hogy öt napos N-mentes tápoldatban történő tartást követően a ‘Kobak’ fajta leveleinek impedancia-modulusa ($|Z|$) megnövekedett, különösen az alacsony frekvenciatartományban. Ezzel szemben a $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 5 mM koncentrációjú oldatának való kitettség után 1, 3 és 5 órát követően, az impedancia-modulus csökkent a kiindulási értékekhez képest. Öt óra elteltével további csökkenés volt megfigyelhető, különösen az alacsony frekvenciákon (**9. ábra A**). Hasonló tendenciát figyeltünk meg hat óra expozíció után is, amikor az impedancia-modulus alacsony frekvencián szintén csökkent a kiindulási állapothoz képest (**9. ábra B**). Az alacsony frekvenciatartományban a sejtmembrán kapacitív reaktanciája magas, ezért a membrán elektromos akadályként viselkedik az intracelluláris tér felé (Prasad és Roy, 2020). Ennek következtében az áram döntően az extracelluláris térben halad, így az impedancia ebben a tartományban elsősorban az R_1 ellenállást tükrözi. Ez a frekvenciatartomány különösen érzékeny lehet az apoplastikus ionkoncentráció, például a NO_3^- változásaira (Nikolic et al. 2012; Li et al. 2017). Ezzel összhangban a korrelációs elemzés (**9. ábra C**) azt mutatta, hogy alacsony frekvenciákon a korrelációs együtthatók magasak és stabilak maradtak, közelítve az 1-hez, ami az impedancia-válaszok konzisztenciáját jelzi. Ezzel szemben magasabb frekvenciákon a korrelációs együtthatók meredek csökkenést mutattak, ami a különböző sejtteri komponensek együttes hozzájárulásával és a rendszer komplexebb viselkedésével magyarázható (Meiqing et al. 2016; Jinyang et al. 2016; Li et al. 2017; Prasad és Roy, 2020).

Eredményeink részben összhangban állnak Li et al. (2017) megfigyeléseivel, akik szintén frekvenciafüggő korrelációt írtak le a levélimpedancia és a N-tartalom között. Ez arra utalhat, hogy a BIS-mérések során az alacsony frekvenciák különösen alkalmasak lehetnek a rövid távú N-ellátottság változásainak detektálására. Ezen megfigyelések alapján az apoplastikus NO_3^- koncentrációt is megvizsgáltuk, és az értékeket összevetettük az R_1 ellenállással.



9. ábra: **A)** Az impedancia nagyságának ($|Z|$) frekvenciafüggő változása 5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ kezelés során különböző időpontokban (0-5 óra) ‘Kobak’ saláta fajta esetében. **B)** Az impedancia nagyságának ($|Z|$) frekvenciafüggő változása 5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ többórás mintavétel alapján (3-6 óra). **C)** Az impedancia-változások frekvenciafüggését bemutató korrelációs együtthatók 5 és 6 órás $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ kezelés után. Az x tengely a frekvenciát (Hz), míg az y tengely az impedancia nagyságát ($|Z|$, $\text{k}\Omega$) ábrázolja.

Az eredmények azt mutatták, hogy az alacsony N-ellátottságú kezelésekben szignifikánsan kisebb apoplasztikus NO_3^- koncentráció halmozódott fel ($p < 0,05$), mint a magasabb N3-N4 szinteken. A legalacsonyabb extracelluláris NO_3^- koncentrációt az N0 kezelésben mértük, amely szignifikánsan eltért ($p < 0,05$) a többi N-kezelési szintektől (10. ábra A). Továbbá az apoplasztikus NO_3^- koncentráció és az R_1 ellenállás között szignifikáns kapcsolat volt kimutatható ($R^2 = 0,67$, $p < 0,01$; 10. ábra B), ami megerősíti, hogy az extracelluláris tér ionösszetételében bekövetkező változások közvetlenül és érzékenyen befolyásolják az R_1 ellenállás értékét.



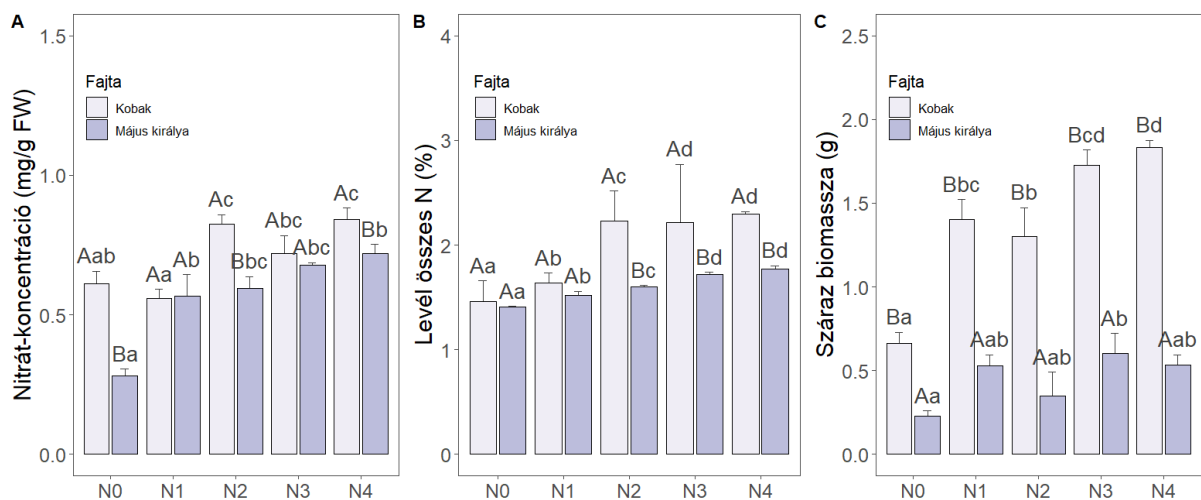
10. ábra: A) A különböző nitrogénkezelések (N0-N4) hatása az extracelluláris NO_3^- koncentrációra a ‘Kobak’ salátafajta leveleiben. **B)** Lineáris kapcsolat az extracelluláris NO_3^- koncentráció és az extracelluláris folyadék ellenállása (R_1) között. Az A ábra esetében az oszlopok az átlagot $\pm$ szórást (SD) jelölik. Az oszlopok felett látható különböző betűk a kezelések közötti szignifikáns eltéréseket mutatják a Tukey-féle post hoc teszt alapján ($p < 0,05$). A B ábra esetében a kék vonal a lineáris regressziót jelöli, míg a körülötte látható árnyékolt terület a 95%-os konfidenciaintervallumot mutatja.

Az előzetes kísérletek azt mutatták, hogy a levelek R_1 ellenállása gyorsan és érzékenyen reagált a NO_3^- ellátottság rövid távú változásaira. A $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ oldattal történő telítést követően az impedancia-modulus jelentős csökkenése, különösen az alacsony frekvenciákon, arra utal, hogy az R_1 ellenállás értéke közvetlenül követi az apoplaztikus NO_3^- koncentráció növekedését. Mivel ebben a frekvenciatartományban az áram elsősorban az extracelluláris térben halad, a változások hátterében az apoplaztikus ionösszetétel és a membránpolarizáció módosulása is állhat (Masclaux-Daubresse et al. 2010; Xu et al. 2012). A magasabb N-ellátású kezelésekben mért nagyobb apoplaztikus NO_3^- koncentráció és az R_1 ellenállás és a NO_3^- tartalom kapcsolat szignifikáns negatív korrelációja összhangban van Nikolic et al. (2012) megállapításaival, miszerint a levelek maximális extracelluláris NO_3^- tartalma 6 órán belül telítődik.

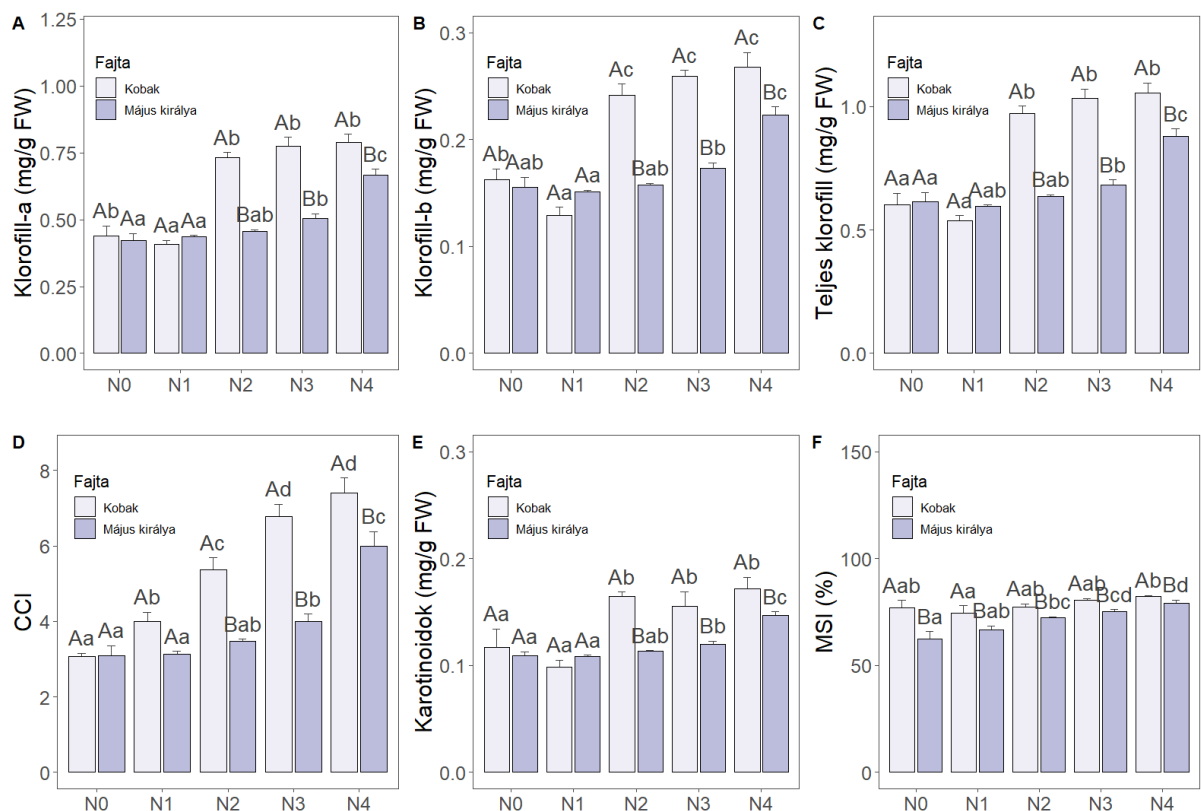
Összességében az eredmények azt mutatják, hogy az R_1 ellenállás különösen az alacsony frekvenciatartományban (1-4000 Hz) alkalmazható a NO_3^- dinamika korai detektálására. Ebből megállapítható, hogy az R_1 ellenállás érzékeny és gyorsan változó indikátora lehet a NO_3^- felvétel kezdeti szakaszának.

Továbbiakban ezért részletesen megvizsgáltuk a különböző N-szintek (N0-N4) hatását a BIS, valamint a növényélettani paraméterekre. A MANOVA alapján a kezelés (Wilks' $\lambda = 0,00$; $F_{(45, 92,57)} = 6,74$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,73$), a fajta (Wilks' $\lambda = 0,07$; $F_{(9, 20)} = 29,04$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,93$), valamint azok interakciója (Wilks' $\lambda = 0,12$; $F_{(27, 59,05)} = 2,36$; $p < 0,05$; $\eta^2 = 0,51$) szignifikáns hatást gyakorolt a növényélettani paraméterekre. A kezelések, a genotípusok és azok függő változókra gyakorolt hatásainak részleteit a **Függelék 1. táblázat** tartalmazza.

A N-ellátás szignifikáns hatást gyakorolt a levél összes N- és NO_3^- -tartalmára, a földfeletti biomasszára (**11. ábra A–C**), valamint a klorofill- és karotinoid tartalomra, valamint a membránstabilitási indexre (**12. ábra A–F**). Eredményeink összhangban állnak korábbi tanulmányokkal, amelyek kimutatták, hogy a N-ellátás alapvetően meghatározza a klorofillszintézist és a növényi produktivitást (Huang et al. 2014; Zhao et al. 2017). A N-hiány következtében csökkenő klorofillszintézis azzal magyarázható, hogy a N a klorofillmolekula felépítésének alapvető alkotóeleme (Zhao et al. 2017). A fajták közötti különbségek összhangban állnak korábbi eredményekkel, amelyek szerint a salátafajták jelentős eltéréseket mutatnak a NO_3^- felhalmozás tekintetében. A szakirodalom alapján a 'Május királya' fajta alacsonyabb, míg a 'Kobak' magasabb NO_3^- akkumulációt mutat (Yaseen és Takács-Hájos, 2022). A 'Május királya' fajta esetében a magasabb N-dózisok (N3 és N4) szignifikánsan magasabb ($p < 0,05$) MSI értékeket eredményeztek az alacsonyabb dózisokhoz (N0, N1 és N2) viszonyítva. Ezzel szemben a 'Kobak' fajtánál csak az N4 dózis okozott szignifikáns különbséget az MSI esetében. Továbbá mindkét fajta esetében megfigyelhető volt, hogy a magasabb N-dózisok (N3 és N4) nem eredményeztek szignifikáns növekedést ($p > 0,05$) sem a NO_3^- , sem az összes N-tartalomban. A száraz/tömeg arány tekintetében egyik fajta esetében sem volt kimutatható szignifikáns N-kezelés hatás ('Kobak': $F_{(4,19)} = 1,47$; $p > 0,05$; 'Május királya': $F_{(4,19)} = 0,96$; $p > 0,05$).



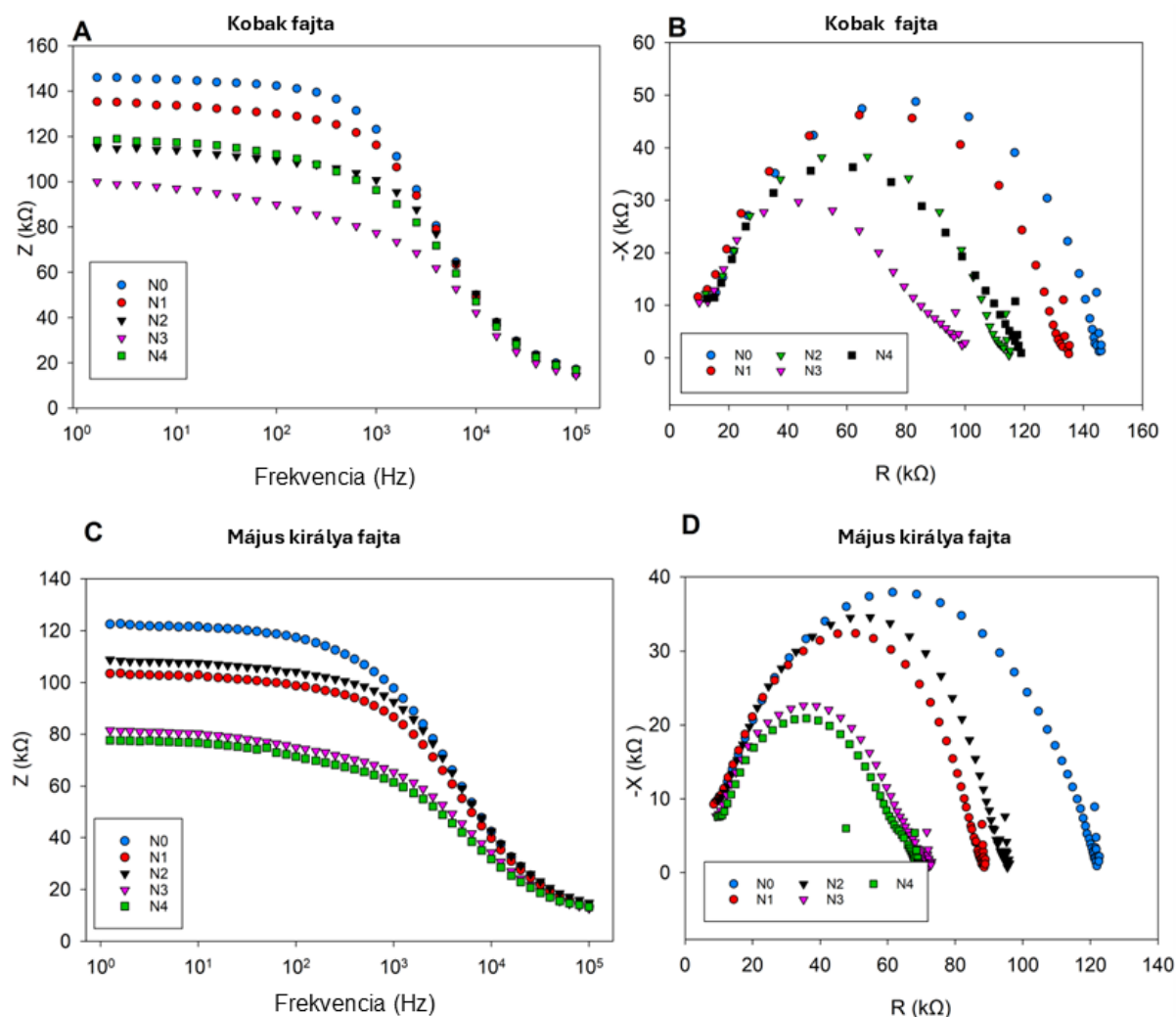
11. ábra: A) A különböző N-kezelések hatása a levelek NO_3^- -koncentrációjára B) az összes levél-N tartalomra és a C) teljes száraz biomasszára két salátafajta esetében a 45 napos nevelési periódus végén. A nagybetűk az azonos N-kezelésen belüli fajták közötti szignifikáns különbségeket jelölik. A kisbetűk az eltérő N-szintek hatására kialakuló, azonos fajtán belüli szignifikáns különbségeket mutatják (Tukey-féle post hoc teszt, $p < 0,05$).



12. ábra: A kezelések hatása a növényélettani paraméterekre salátafajta esetében. A) klorofil-a, B) klorofil-b, C) Teljes klorofil tartalom (total Chl), D) klorofilkoncentrációs-index (CCI), E) karotinoidok, F) membránstabilitási index (MSI, %). Az értékek négy ismétlés átlagai $\pm$ szórás (SD). A nagybetűk az azonos N-kezelésen belüli fajták közötti szignifikáns különbségeket jelölik. A kisbetűk az eltérő N-szintek hatására kialakuló, azonos fajtán belüli szignifikáns különbségeket mutatják (Tukey-féle post hoc teszt, $p < 0,05$).

A különböző N-kezelések eltérő hatást mutattak az impedancia-görbékre. A magasabb frekvenciatartományban az impedancia csökkent a növekvő N-tartalommal, míg az alacsony N-ellátottságú levelek mindkét fajtában magasabb impedanciát mutattak. A nagyobb N-dózisok (N3–N4) mindkét fajtában alacsonyabb impedanciát eredményeztek (**13. ábra A–C**). Az alacsony frekvenciákon a fokozódó N-hiány az impedancia növekedését okozta, ami elsősorban az R_1 ellenállásának növekedésére utalhat. Ebben a frekvenciatartományban az áram döntően az apoplastikus téren keresztül halad, mivel a sejtmembrán kapacitív reaktanciája korlátozza a sejtbeli vezetést (Prasad és Roy, 2020b). Ennek megfelelően az alacsony N-ellátottság mellett megfigyelt nagyobb impedancia valószínűleg az apoplastikus ionkoncentráció, különösen a mobil NO_3^- ionok csökkenésével függ össze. Ezt támasztják alá azok az előzetes eredményeink is, ahol az alacsony frekvenciatartományban az impedancia érzékenyen követte az apoplastikus NO_3^- koncentráció változását, és az extracelluláris ellenállás szignifikáns negatív kapcsolatot mutatott a NO_3^- -tartalommal (**9–10. ábra**). A Nyquist-diagramok (**13. ábra B–D**) alapján a kezelések közötti különbségek főként az alacsony frekvenciás tartományhoz tartozó szakaszokon voltak kifejezettek, ami arra utal, hogy a N-kezelések nemcsak a rezisztív, hanem a membránpolarizációhoz kapcsolódó reaktív komponenseket is befolyásolták (Li et al. 2017). A Nyquist-félkörök nemcsak a valós tengely mentén tolódtak el, hanem a görbék maximális képzetes komponense és alakja is módosult, ami arra utal, hogy a N-kezelések nem kizárólag az ohmos vezetést, hanem a kapacitív viselkedést is befolyásolták. A Nyquist-görbék alakjának és helyzetének együttes változása arra utal, hogy a N-kezelések nem egyetlen ideális elektromos komponenst módosítottak, hanem több, egymással átfedő rezisztív és reaktív folyamat hozzájárulását változtatták meg. Ez összhangban van azzal, hogy a biológiai szövetek impedancia-válasza eloszlott időállandójú, nem ideális rendszerként írható le (Van Haeverbeke et al. 2023). A magasabb N-ellátottságú kezelésekben mért kisebb impedanciaértékek jobb ionvezetésre, kedvezőbb intracelluláris és extracelluláris ioneloszlásra, valamint stabilabb membránállapotra utalhatnak. Ugyanakkor az N3 és N4 kezelések közötti kisebb különbségek arra engednek következtetni, hogy a magasabb N-tartományban a levél N-felvétele és az ehhez kapcsolódó elektromos válasz részben telítődő jelleget mutatott, amit az is alátámaszt, hogy e két kezelés között sem a NO_3^- , sem az összes N-tartalomban nem volt kimutatható további szignifikáns növekedés. A fajták közötti összehasonlítás alapján a ‘Május királya’ genotípusban az impedancia-válasz rendezettebben követte az N-ellátottsági szinteket, ami arra utal, hogy ebben a fajtában a BIS érzékenyebben tükrözte a N-állapothoz kapcsolódó sejtszintű változásokat. Ez összhangban van azzal, hogy a szakirodalom szerint a ‘Május királya’ alacsonyabb, míg a ‘Kobak’ magasabb NO_3^- -

akkumulációra hajlamos (Yaseen és Takács-Hájos, 2021), továbbá a ‘Május királya’ esetében a magasabb N-dózisok kedvezőbb membránállapotot jelző MSI-értékekkel társultak. Mindez arra utal, hogy ebben a fajtában az impedancia-elkülönülés nem kizárólag a NO_3^- felhalmozás mértékét, hanem a teljes levél N-tartalom és a membránintegritás együttes változását is tükrözheti.



13. ábra: A két salátafajta ('Kobak' és 'Május királya') impedancia-válaszai öt különböző nitrogénkezelés (N0-N4) mellett. **A, C)** Bode-diagramok, amelyek az impedancia abszolút értékét (Z , k Ω) mutatják a frekvenciatartományban (1 Hz - 100 kHz) a 'Kobak' (**A**) és a 'Május királya' (**C**) genotípus esetében. **B, D)** Nyquist diagramok, amelyek az impedancia valós (R , k Ω) és képzetes komponense ($-X$, k Ω) közötti összefüggést mutatják be a két salátafajta esetében. Minden pont öt ismétlés átlagát jelenti. A szimbólumok a jelmagyarázatban feltüntetett N-szinteket jelölik.

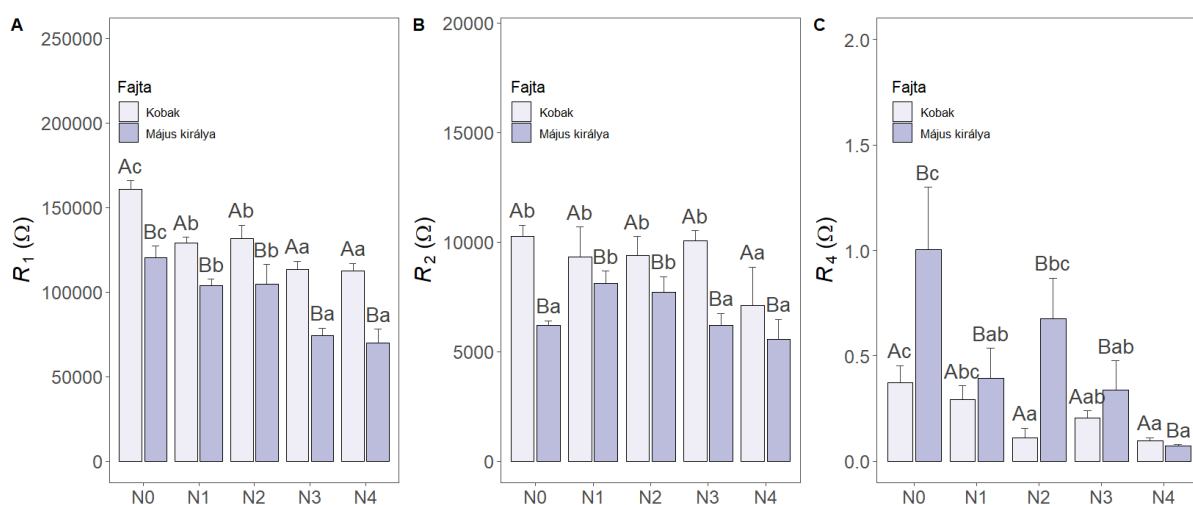
Ezt követően az öt N-szint hatását megvizsgáltuk a BIS-paraméterekre. Az öt különböző N-kezelés, valamint a fajta és azok kölcsönhatása szignifikáns hatást mutatott a növényi BIS-paraméterekre. A kezelés hatása szignifikáns volt (Wilks' $\lambda = 0,12$; $F_{(28, 304, 29)} = 8,65$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,41$), ahogyan a fajtaé is (Wilks' $\lambda = 0,17$; $F_{(7, 84)} = 57,54$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,83$). A kezelés

és fajta közötti interakciója szintén szignifikáns hatást mutatott (Wilks' $\lambda = 0,39$; $F_{(28, 304,29)} = 3,27$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,21$). A kezelések, a fajták és azok függő változókra gyakorolt hatásainak részleteit a **Függelék 2. táblázat** tartalmazza.

Az R_1 ellenállás alacsony N-ellátás mellett mindkét fajtában növekedést mutatott, és statisztikailag szignifikánsan különbözött ($p < 0,05$) a magasabb N-tartalmú saláta növényektől (**14. ábra A**). A megfigyelt R_1 ellenállás növekedés arra utal, hogy alacsony N-ellátás mellett a fejes saláta levelekben csökkent az apoplasztikus ionkoncentráció, különösen a NO_3^- -ionok mennyisége, ami az elektromos vezetőképesség mérséklődésén keresztül nagyobb extracelluláris ellenállást eredményezett. Eredményeink részben eltérnek Li et al. (2017) paradicsomon közölt megfigyeléseitől, ahol az R_1 ellenállás erős N-hiány esetén csökkent, amit a szerzők a membránkárosodással és az intracelluláris elektrolitok extracelluláris térbe történő kijutásával magyaráztak. A kutatók szerint ez a változás különösen akkor vált kifejezetté, amikor a levél N-tartalma 2,69% alá csökkent, vagyis a csökkenő R_1 ellenállás már a súlyosabb stresszhez társuló membránintegritás-vesztést tükrözhet. Mivel mind a jelen fejes saláta-kísérlet, mind Li et al. (2017) paradicsomon végzett vizsgálata azonos, Yamazaki-alapú tápoldatra épült, az ellenállásban megfigyelt különbségek nem a tápoldat összetételére, hanem elsősorban a fajok eltérő N-forgalmára, a NO_3^- -kompartmentalizáció sajátosságaira és a stresszintenzitás különbségeire vezethetők vissza. Ennek alapján feltételezhető, hogy ugyanaz az R_1 ellenállási paraméter eltérő növényfajokban és eltérő stresszállapothoz más domináns élettani folyamatot tükrözhet: mérsékelt N-hiányban elsősorban az apoplasztikus ionvezetés csökkenését, míg súlyosabb hiányban már a membránkárosodásból eredő elektrolitszivárgást. Ezt támasztja alá, hogy vizsgálatunkban negatív kapcsolat volt kimutatható a teljes levél NO_3^- -tartalom, a levél teljes N-tartalma és az R_1 ellenállás között, ugyanakkor a kapcsolat erőssége kifejezetten fajtafüggőnek bizonyult. A 'Kobak' fajta esetében mind a teljes levél NO_3^- -tartalom, mind az összes levél N-tartalom erős negatív korrelációt mutatott az R_1 ellenállással ($r = -0,76$, illetve $r = -0,73$), míg a 'Május királya' fajtában a NO_3^- -tartalom és az R_1 ellenállás kapcsolata gyenge volt ($r = -0,23$), az összes levél N-tartalom és az R_1 ellenállás közötti összefüggés azonban továbbra is erős negatív korrelációt mutatott ($r = -0,77$) (**Függelék 4. ábra**). Ez az eltérés összhangban van azzal, hogy a 'Kobak' fajta NO_3^- -felhalmozásra hajlamosabb, míg a 'Május királya' esetében a NO_3^- pufferelése erőteljesebb lehet (Yaseen és Takács-Hájos, 2022), ezért az apoplasztikus ionvezetéshez való közvetlen hozzájárulása kisebb.

Az R_2 ellenállás kisebb mértékben változott (**14. ábra B**), ami azzal magyarázható, hogy a citoplazmában működő NR és az intenzív asszimiláció gyorsan átalakítja és mobilizálja a NO_3^- ionokat (Li et al. 2022; Masclaux-Daubresse et al. 2010). Wang és Shen (2011) eredményei alapján a citoplazma NO_3^- -szintje a NO_3^- kezelést követően alacsony marad, amely összhangban van jelen vizsgálatunkkal is: egyik fajtában sem volt kimutatható szignifikáns kapcsolat a levél NO_3^- -tartalma és az R_2 ellenállás között (**Függelék 4–5. ábra**).

Az R_4 ellenállás mindkét fajtában szignifikáns különbségeket mutatott (**14. ábra C**). Az alacsonyabb N-tartalmú mintákban szignifikánsan magasabb R_4 ellenállás volt kimutatható. Továbbá az R_4 ellenállás értéke és a levél NO_3^- -tartalma között a ‘Kobak’ fajtában szignifikáns negatív korreláció volt kimutatható ($r = -0,60$) (**Függelék 4. ábra**), míg a ‘Május királya’ genotípusban a kapcsolat szintén gyengébb volt ($r = -0,44$) (**Függelék 5. ábra**). Ez az eltérés összhangban áll a két fajta eltérő NO_3^- -felhalmozási sajátosságaival (Yaseen és Takács-Hájos, 2022), és arra utal, hogy a ‘Kobak’ fajtában a vakuólum NO_3^- készlet dinamikusabban járul hozzá az intracelluláris ionvezetéshez. Mivel a magasabb frekvenciájú áramvezetés elsősorban az intracelluláris terekben történik (Prasad és Roy, 2020), az R_4 ellenállás változása közvetve jelezheti a vakuólum NO_3^- -tartalmának módosulását. A N-hiány esetén a gyökér NO_3^- -felvétele csökken, a vakuólumokból tárolt NO_3^- mobilizációja biztosítja a citoplazma NO_3^- -homeosztázisát (Cookson et al. 2005; Richard-Molard et al. 2008). Bár az R_4 ellenállása a magas víztartalom miatt általában stabilnak tekinthető (Martin et al. 2021), eredményeink arra utalnak, hogy a vakuólum NO_3^- -koncentrációja mégis érzékelhetően befolyásolja az R_4 ellenállást.

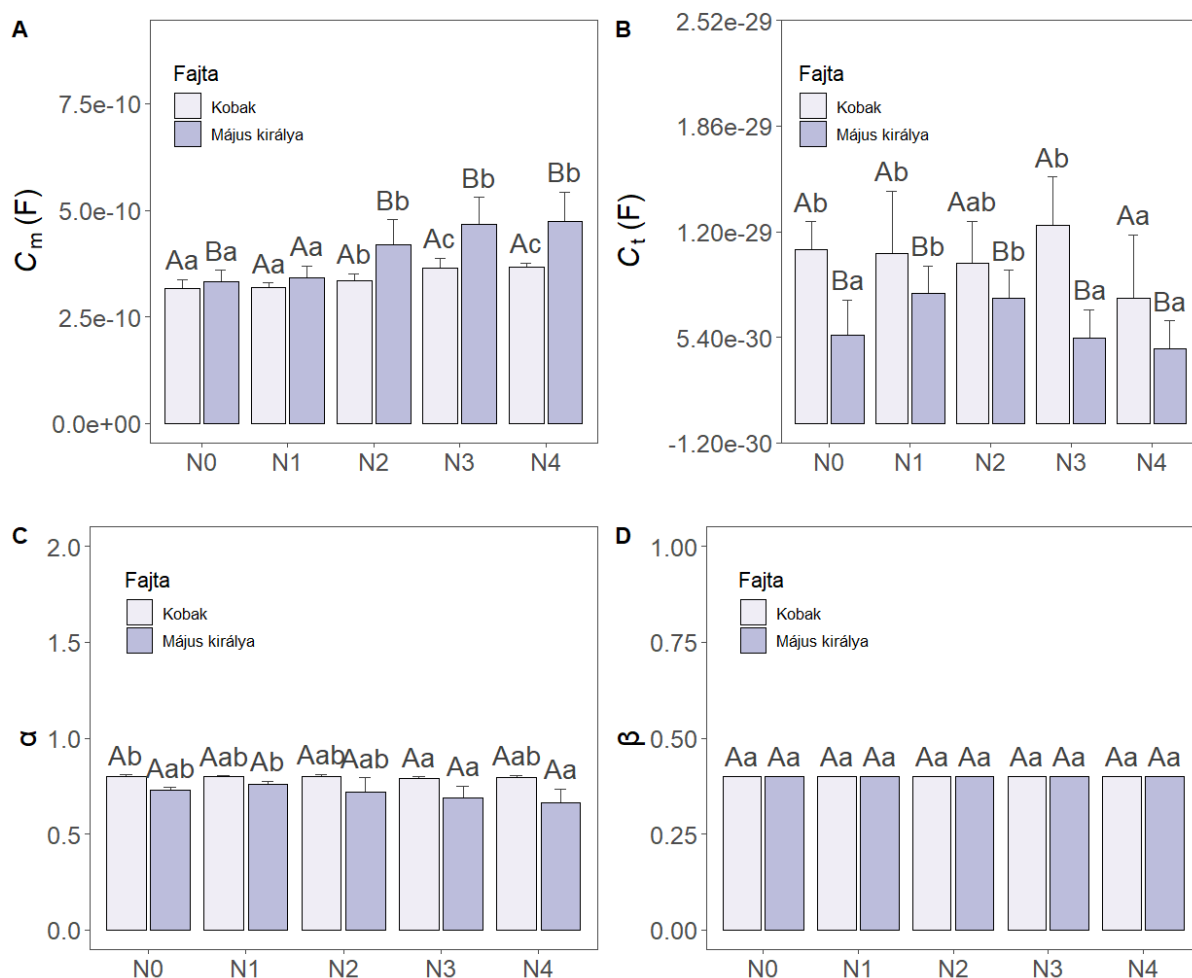


14. ábra: A N-kezelések hatása a sejt elektromos ellenállási paramétereire: **A)** extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), **B)** intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), **C)** vakuólumfolyadék

ellenállása (R_4) két fajtában az N0-N4 kezelések alatt. A nagybetűk az azonos nitrogénkezelésen belül a fajták közötti szignifikáns különbségeket jelzik. A kisbetűk az egyes fajtákon belül, az eltérő nitrogénszintek között mutatnak szignifikáns különbséget. (Tukey-féle post hoc teszt, $p < 0,05$).

Az alacsony N-ellátás szignifikánsan csökkentette a C_m értéket (**15. ábra A**). Emellett a ‘Kobak’ fajtában szignifikáns pozitív korreláció mutatkozott az MSI és a C_m között ($r = 0,68$) (**Függelék 4. ábra**), ami a membrán integritásának változására utal (Gaude et al. 2007; Li et al. 2024; Pandey et al. 2025). A C_m csökkenése magyarázható a membrán töltéstároló képességének csökkenésével is (Azzarello et al. 2012). Korábbi vizsgálatok szerint a N-, P- és K-hiány egyaránt csökkenti a C_m értéket (Jinyang et al. 2016, Meiqing et al. 2016, Li et al. 2017). Mivel a kísérletünkben a Yamazaki-oldat minden makro- és mikroelemet azonos koncentrációban tartalmazott, a N kivételével, más tápelemek nem befolyásolhatták az eredményeket. Több tanulmány igazolja, hogy a N-hiány csökkenti a membrán fluiditását, növeli a merevséget, és változtatja a lipidösszetételt (Narasimhan et al. 2013; Liu et al. 2020), ami a membrán dielektromos tulajdonságainak módosulásán keresztül a töltéstároló képesség csökkenését eredményezheti, és ezáltal magyarázhatja a C_m értékének csökkenését. Ez különösen jól tükröződik abban, hogy a ‘Kobak’ fajtában, ahol a C_m szoros kapcsolatot mutatott az MSI-vel ($r = 0,68$), ami a membrán integritásának és funkcionális állapotának együttes változására utal (Gaude et al. 2007; Li et al. 2024; Pandey et al. 2025). A ‘Május királya’ fajtában az alacsony N-ellátottságú minták (N0) alacsonyabb C_m értékeket mutattak, míg az N2-N3 kezelések esetében növekedés volt megfigyelhető, amelyet a legmagasabb N-szinten ismét csökkenés követett, míg a ‘Kobak’ fajtában a legmagasabb C_m érték az N3 kezelés alatt jelentkezett. Ez a nemlineáris válasz mindkét genotípus esetében arra utal, hogy a C_m optimuma a közepes N-ellátottsághoz köthető, amely mellett a membrán fluiditása és ionvezető képessége a legkedvezőbb (Li et al. 2017).

Az α és β paraméterek valamennyi kezelésben egyenletes értékeket mutattak (**15. ábra C–D**), ami arra utal, hogy a membrán „nem-ideális kapacitív” viselkedését leíró diszperziós jellemzők kevésbé érzékenyek az N-ellátottság változásaira, és elsősorban a C_m abszolút értéke tükrözi a membránfiziológiai állapotot.



15. ábra: A különböző N-kezelések hatása az elektromos kapacitásparaméterekre: **A)** sejtmembrán kapacitása (C_m), **B)** vakuólum-membrán kapacitása (C_t), **C)** az α paraméter (a vakuólum-membránhoz kapcsolódó exponens paraméter), **D)** a β paraméter (a plazmamembránhoz kapcsolódó exponens paraméter). A nagybetűk az azonos nitrogénkezelésen belül a fajták közötti szignifikáns különbségeket jelzik. A kisbetűk az egyes fajtákon belül, az eltérő nitrogénszintek között mutatnak szignifikáns különbséget. (Tukey-féle post hoc teszt, $p < 0,05$).

Összességében eredményeink azt mutatták, hogy a BIS érzékenyen, kvantitatívan és reprodukálhatóan tükrözi a fejes saláta levelek N-ellátottsági állapotát, és jól elkülöníti az alacsony és optimális N-szinteket. Az R_1 ellenállása bizonyult a legmegbízhatóbb indikátornak, amely szoros negatív kapcsolatot mutatott a levél NO_3^- -tartalmával, különösen az alacsony frekvenciatartományban. A C_m és a R_4 ellenállása szintén érzékenyen reagált a N-hiányra, ugyanakkor ezen paraméterek változása erősen fajta függőnek bizonyult. Míg a 'Kobak' fajta a membránstabilitás és a kapacitásértékek alapján kifejezettebb elektrofiziológiai választ adott a N-hiányra, addig a 'Május királya' esetében a BIS-paraméterek változásai mérsékeltebbek voltak. Ezek az eltérések alátámasztják, hogy a BIS alapú N-érzékelésnél a

fajta-specifikus különbségeket figyelembe kell venni, továbbá a magasabb N-szintek (N3-N4) közötti csekély impedanciabeli eltérés arra utal, hogy a levelek NO_3^- -homeosztázisát szabályozó fiziológiai visszacsatolási mechanizmusok stabilizálják a sejten belüli N-eloszlást (Hesari et al. 2023; Li et al. 2022), így a BIS-válasz telítődést mutathat a magasabb N-ellátottsági tartományban.

4.2.2 Eltérő nitrogénellátottsági szintek hatása a bioimpedancia- és növényélettani paraméterekre uborkanövényeken üvegházi körülmények között

A fejes saláta fajtán végzett kísérletek alapján megállapítható volt, hogy a BIS-paraméterek, különösen R_1 , R_2 , C_m paraméterek, érzékenyen követték a N-ellátottság változásait, és szoros kapcsolatot mutattak a levél NO_3^- - és összes N-tartalmával. Mivel azonban ezek az összefüggések egy levélzöldségfajon, kontrollált körülmények között kerültek meghatározásra, a következő lépésben szükséges volt annak vizsgálata is, hogy a megfigyelt BIS-válaszok mennyiben általánosíthatók más fajra és eltérő kísérleti környezetre. Ennek érdekében a vizsgálatokat uborkanövényeken folytattuk, üvegházi körülmények között. Az uborka bevonása lehetőséget adott annak tesztelésére, hogy a fejes salátában azonosított összefüggések különösen a N-ellátottság és a BIS-paraméterek kapcsolata más levélszerkezetű, eltérő növekedési dinamikájú fajban is kimutathatók-e. Ezzel a kísérleti lépéssel már nem csupán a BIS-paraméterek élettani értelmezését kívántuk megerősíteni, hanem a módszer fajok közötti alkalmazhatóságát is értékeltük. Ezt követően az uborka levelek növényélettani és BIS-válaszait elemeztük eltérő N-kezelések mellett.

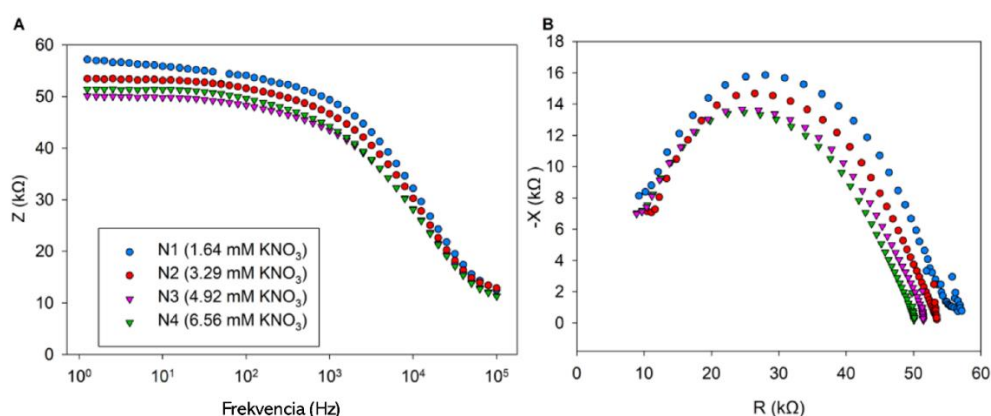
A N-kezelések szignifikánsan befolyásolták az uborka levelek növényélettani paramétereit a 6-7 leveles fenológiai stádiumban ($F_{(3,32)} = 28,03$; $p < 0,001$; Wilk's $\lambda = 0,27$; partial $\eta^2 = 0,72$).

A legalacsonyabb klorofill-, összes N- és NO_3^- -tartalom az N1 kezelésben volt kimutatható, míg a legmagasabb értékeket az N3 és N4 kezelések adták. A N3 és N4 kezelések között nem mutatkozott szignifikáns különbség (**8. táblázat**), ami a magasabb N-ellátottság esetén bekövetkező telítődésre utal. Ezek az eredmények összhangban vannak korábbi tanulmányokkal (Li et al. 2022; Hesari et al. 2023).

8. táblázat: Az ANOVA eredményeinek összefoglaló táblázata az uborkanövények növényélettani paramétereiről különböző nitrogénkezelések (N1-N4) esetén. A betűk a kezelések közötti szignifikáns különbségeket jelzik (Tukey HSD, $p < 0,05$).

Kezelések (N-szintek)	CCI	Teljes levél N (%)	Levél NO_3^- tartalom (mg /g FW)	Klorofill-a tartalom (mg/g FW)	Klorofill-b tartalom (mg/g FW)	Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	Karotinoidok (mg/g FW)
N1	$37,93 \pm 0,86^a$	$4,41 \pm 0,07^a$	$0,37 \pm 0,17^a$	$3,56 \pm 0,07^a$	$1,15 \pm 0,02^a$	$4,55 \pm 0,09^a$	$0,63 \pm 0,01^a$
N2	$43,33 \pm 1,80^b$	$4,87 \pm 0,15^b$	$0,43 \pm 0,36^b$	$4,05 \pm 0,16^b$	$1,31 \pm 0,05^b$	$5,16 \pm 0,20^b$	$0,71 \pm 0,02^b$
N3	$47,33 \pm 3,17^c$	$5,22 \pm 0,27^c$	$0,47 \pm 0,64^c$	$4,41 \pm 0,28^c$	$1,43 \pm 0,09^{bc}$	$5,62 \pm 0,36^c$	$0,77 \pm 0,04^c$
N4	$49,70 \pm 4,46^c$	$5,42 \pm 0,38^c$	$0,46 \pm 0,89^c$	$4,63 \pm 0,40^c$	$1,49 \pm 0,12^c$	$5,89 \pm 0,50^d$	$0,80 \pm 0,06^c$
F érték	28,03	25,03	22,03	28,03	26,03	28,03	25,03
Parciális η^2	0,72	0,71	0,69	0,72	0,60	0,72	0,52
p-érték	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05

A BIS eredmények azt mutatták, hogy az alacsony N-ellátottság (N1-N2) jelentősen növelte az uborka levelek impedancia-modulusát, míg a magasabb N-szintek (N3-N4) alacsonyabb impedanciát eredményeztek (**16. ábra**). Ez összhangban áll a levelek NO_3^- és összes N-tartalmával, amelyek szintén lényegesen alacsonyabbak voltak az N1 kezelésben. Eredményeink összhangban vannak Li et al. (2017) eredményeivel, akik kimutatták, hogy az alacsony N-tartalmú paradicsomlevelek magasabb impedanciát mutatnak, ami az alacsony N-tartalomra visszavezethető csökkent ionvezető képesség következménye.

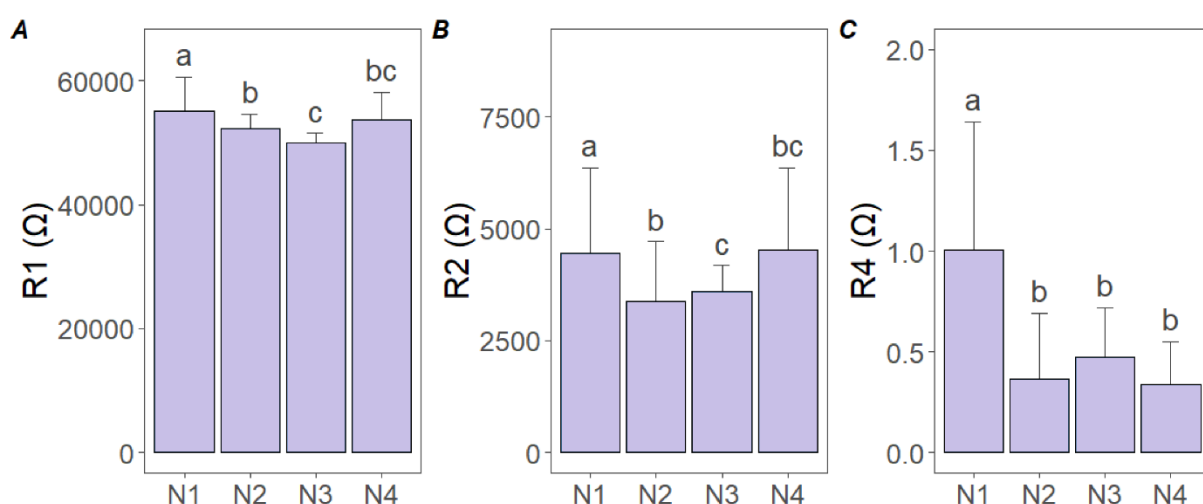


16. ábra: Az uborka levelek bioimpedancia-spektrumának frekvenciafüggő változásai különböző nitrogénkezelések mellett. **A)** Bode-diagram, amely az impedancia frekvenciafüggését ábrázolja uborkalevelekben. **B)** Nyquist diagram, amelyek az impedancia valós (R, kΩ) és képzetes komponense (-X, kΩ) közötti összefüggést mutatják a N-dózisok függvényében.

A BIS-paraméterek részletes vizsgálata azt mutatta, hogy üvegházi körülmények között is az R_1 ellenállása volt a legérzékenyebb mutató N-ellátottság változásaira. A legalacsonyabb N-szinttel ellátott növények (N1) mutatták a legmagasabb R_1 ellenállás értéket, míg a legkisebb R_1 ellenállása az N3 kezelésben volt mérhető (**17. ábra A**). Ennek oka, hogy az alacsony N-szint esetén az apoplasztikus tér NO_3^- való telítettsége csökken, így az ionmobilitás mérséklődése miatt nő az ellenállás (Richard-Molard et al. 2008; Xu et al. 2012). Mivel a 1-4000 Hz közötti tartományban az áram elsősorban az apoplasztban halad (Prasad és Roy, 2020), az R_1 ellenállás paraméter különösen érzékenyen jelzi az extracelluláris tér ionösszetétel változásait (Masclaux-Daubresse et al. 2010).

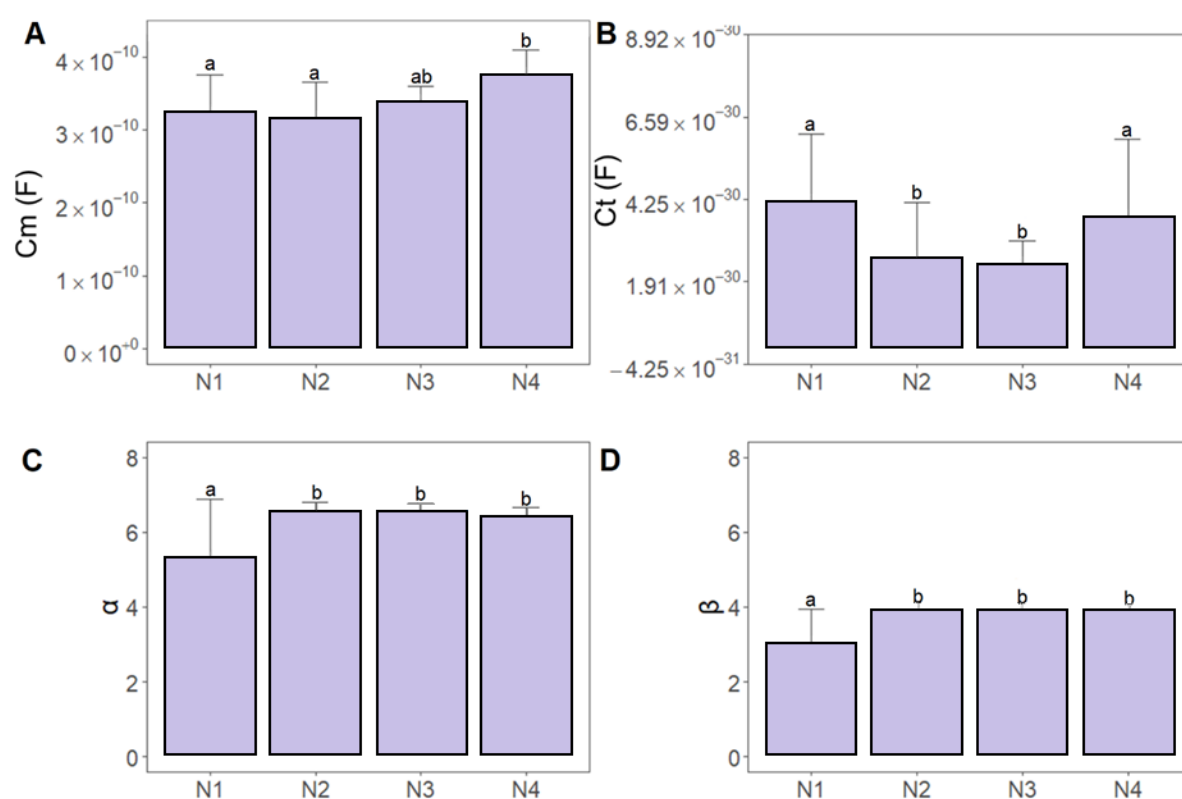
Az R_2 ellenállás szintén magasabb volt az N1 kezelésben (**17. ábra B**), ami arra utal, hogy alacsony N-ellátás esetén csökken a citoplazma ionkészlete. Ugyanakkor a különbségek mérsékeltebbek voltak, mint az R_1 ellenállásé, ami azzal függ össze, hogy a citoplazmában működő NR és az asszimilációs folyamatok gyorsan mobilizálják a NO_3^- ionokat (Wang és Shen, 2011; Li et al. 2022).

Az R_4 ellenállás esetében a legmagasabb értékeket az N1 kezelésben mértük (**17. ábra C**), ami a vakuólum csökkent NO_3^- -tartalmával magyarázható, mivel ez a sejtorganellum a NO_3^- fő tárolóhelyei (Cookson et al. 2005; Nouaze et al. 2022). Bár egyes szerzők szerint a R_4 ellenállása a magas víztartalom miatt kevésbé változik, a jelen kísérlet adatai egyértelmű érzékenységet jeleznek, amely feltehetően a genotípusonként eltérő NO_3^- mobilizációs dinamikához kapcsolódik (Wang és Shen, 2011; Burns et al. 2012; Hesari et al. 2023).



17. ábra: A N-kezelések hatása a sejt elektromos ellenállási paramétereire: **A)** extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), **B)** intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), **C)** vakuólumfolyadék ellenállása (R_4) uborkanövényeken (Tukey's HSD, $p < 0.05$).

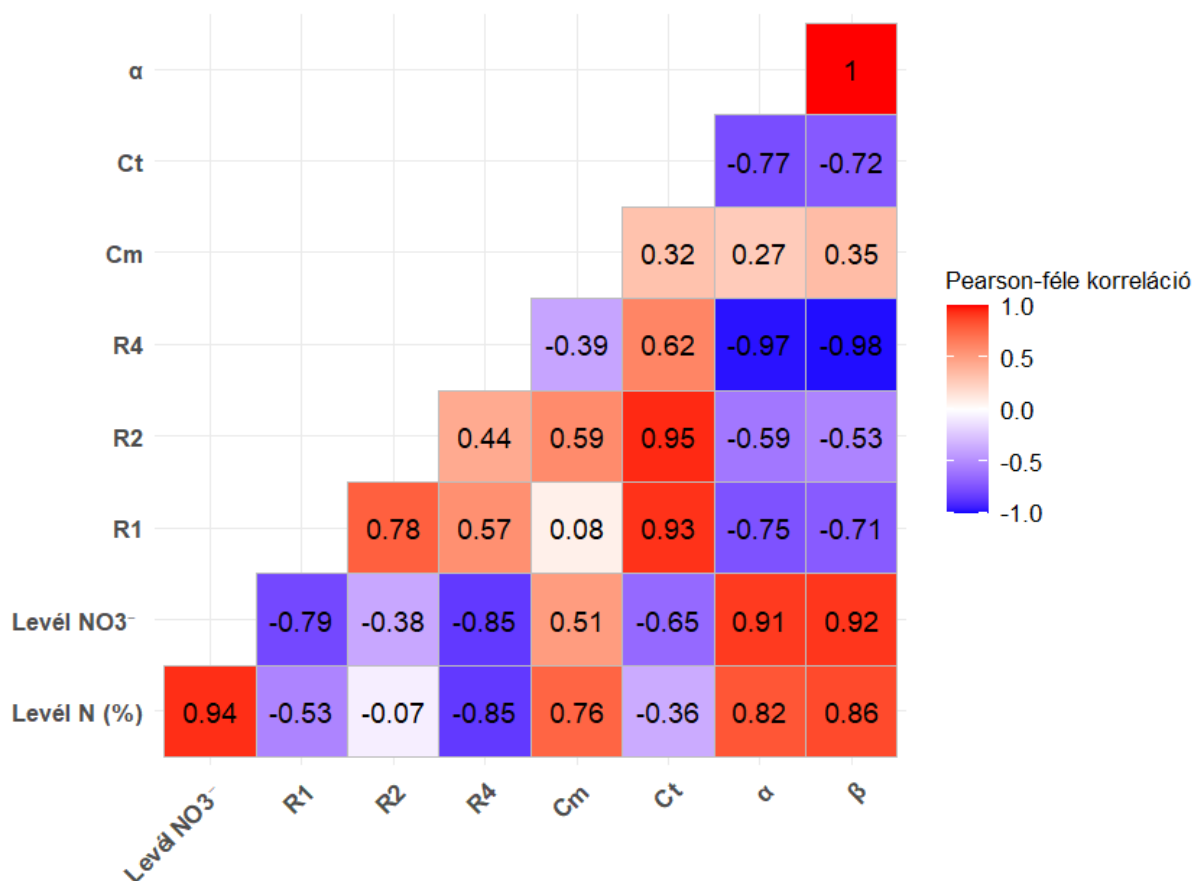
A kapacitásparaméterek (C_m és C_t) eltérő értékeket mutattak a különböző N-ellátottságú uborkanövények leveleiben (**18. ábra**). A C_m az alacsony N-kezelésben csökkent, ami a membrán fluiditásának romlásával és a töltéstároló képesség csökkenésével függ össze (Azzarello et al. 2012; Liu et al. 2020). A C_t hasonló trendet mutatott: az alacsony N-ellátottságú minták alacsonyabb kapacitásértékei a tonoplaszt csökkent dielektromos stabilitását jelzik (Narasimhan et al. 2013). Az α és β paraméterek, amelyek a vakuólum- illetve plazmamembrán dielektromos tulajdonságait írják le (Serrano-Finetti et al. 2023), szintén alacsonyabbak voltak N-hiány esetén, ami arra utal, hogy az iontranszport és ozmoreguláció membránszintű szabályozása gyengül.



18. ábra: A különböző N-kezelések hatása az elektromos kapacitásparaméterekre: **A)** sejtmembrán kapacitása (C_m), **B)** vakuólum-membrán kapacitása (C_t), **C)** az α paraméter (a vakuólum-membránhoz kapcsolódó exponens paraméter), **D)** a β paraméter (a plazmamembránhoz kapcsolódó exponens paraméter). (Tukey's HSD, $p < 0.05$).

A magasabb N-szintek (N3-N4) között egyik BIS-paraméter esetében sem mutatkoztak szignifikáns különbségek. Ez arra utal, hogy a NO_3^- felvétele visszacsatolt módon szabályozott, és magasabb N szint esetén működésbe lép a N- felvétel gátlása, ahogyan azt már korábban is több szerző is bizonyította (Richard-Molard et al. 2008; Li et al. 2022; Hesari et al. 2023). Így a sejten belüli N-homeosztázis stabilizálódik, és ez a BIS-értékek kiegyenlítődését eredményezi.

A növényélettani és BIS-paraméterek közötti kapcsolatok feltárása érdekében Pearson-féle korrelációs elemzést végeztünk (**19. ábra**). A korrelációs elemzés azt mutatta, hogy az BIS-paraméterek szoros kapcsolatban állnak a levél összes N- és NO_3^- -tartalmával. Az összes N és a NO_3^- között erős pozitív korreláció volt megfigyelhető ($r = 0,94$), míg a NO_3^- -tartalom és az R_1 ellenállás között erős negatív korreláció állt fenn ($r = -0,79$). A NO_3^- -szint növekedése továbbá az R_2 ellenállás és a R_4 ellenállás csökkenésével járt együtt ($r = -0,38$, illetve $r = -0,85$).



19. ábra: A BIS- és a N-ellátottsággal kapcsolatos paraméterek közötti Pearson-féle korrelációs mátrix. Extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).

Az üvegházi vizsgálatok eredményei rámutattak arra, hogy a BIS-paraméterek diagnosztikai értéke genotípusfüggő lehet, mivel az 'ES2217 F₁' genotípus esetében különösen erős és szignifikáns összefüggések voltak kimutathatók. Ennek alapján a következő kísérletben két eltérő uborkahibrid bevonásával vizsgáltuk tovább a korai N-hiány és a BIS-paraméterek közötti kapcsolatot.

4.3 Korai nitrogénhiány hatása a bioimpedancia-és növényélettani paraméterekre

Az előző kísérletek eredményei igazolták, hogy a BIS érzékenyen tükrözi a levelek N-ellátottságát, különösen az R_1 , R_4 ellenállás és a C_m kapacitáson keresztül. Ennek alapján a jelen fejezet célja a korai N-hiány hatásának vizsgálata két eltérő uborkahibrid ('Nairobi F₁' és 'ES2217 F₁') bevonásával, különös tekintettel a BIS-paraméterek diagnosztikai alkalmazhatóságára.

Eredményeink alapján a MANOVA szignifikáns főhatást mutatott ki a genotípus (Wilks' $\lambda = 0,03$; $F_{(15, 82)} = 41,79$; $p < 0,001$; parciális $\eta^2 = 0,97$), a kezelés (Wilks' $\lambda = 0,10$; $F_{(15, 82)} = 9,93$; $p < 0,001$; parciális $\eta^2 = 0,90$), valamint azok kölcsönhatása (Wilks' $\lambda = 0,09$; $F_{(15, 82)} = 11,87$; $p < 0,001$; parciális $\eta^2 = 0,91$) esetében. Az egyes növényélettani paraméterekre vonatkozó egyváltozós hatásokat a **Függelék 3. táblázat** mutatja be.

A korai N-hiány szignifikánsan befolyásolta az uborkanövények növényélettani paramétereit (**9. táblázat**). A 2,2 mM N-ellátás N-hiányt idézett elő, amely mindkét genotípusban csökkentette a klorofilltartalmat, összhangban a korábbi megfigyelésekkel, miszerint az N-hiány gátolja a klorofill pigmentek bioszintézisét (Zhao et al. 2017). Az 'ES2217 F₁' genotípus magasabb fotoszintetikus hatékonyságot mutatott (F_v/F_m , Y(II), ETR), míg a 'Nairobi F₁' nagyobb antioxidáns kapacitással és stabilabb membránállapottal reagált a csökkent N-szintre. Az antioxidáns aktivitás és a teljes polifenol-tartalom mindkét genotípusban növekedett N-hiányban, ami jelzi a nem enzimatis oxidatív stressz elleni védekező mechanizmusok aktiválódását (Zhang et al. 2016). Az MSI nem változott szignifikánsan a 'Nairobi F₁'-ben, míg 'ES2217 F₁'-ben csökkent, ami genotípusonként eltérő membránvédelmi stratégiákra utal (Guo et al. 2022; John et al. 2024). Az RWC nem mutatott szignifikáns eltérést ($p < 0,05$), ami az optimális vízellátásnak tulajdonítható (Wang et al. 2020). Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a két genotípus különböző fiziológiai mechanizmusokkal alkalmazkodott a korai N-hiányhoz.

9. táblázat: A magas és alacsony nitrogénellátás hatása a ‘Nairobi F1’ és ‘ES2217 F1’ uborka genotípusok növényélettani paramétereire.

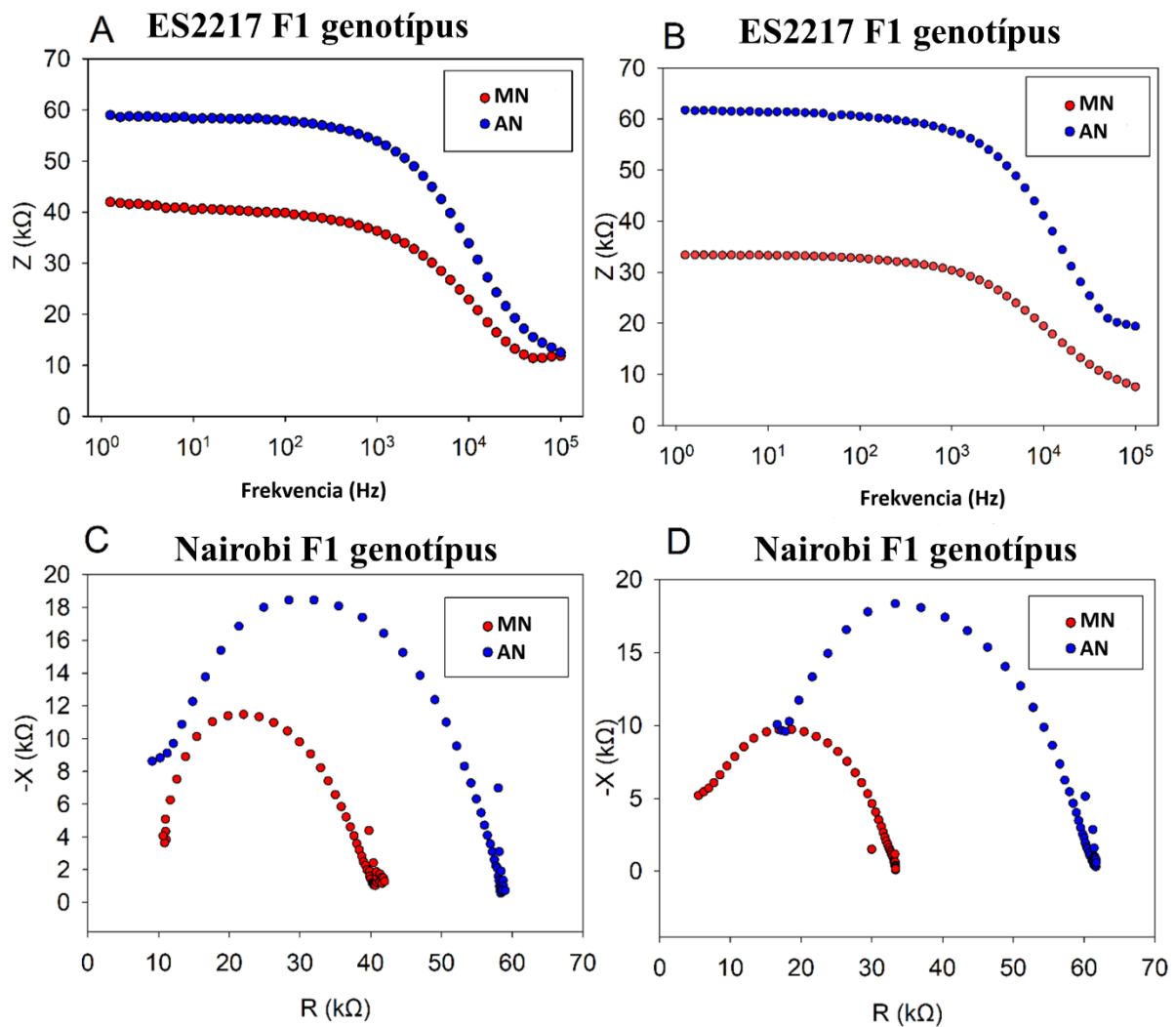
Növényélettani paraméterek	Kezelések	Nairobi F ₁ genotípus (Átlag ± SD)	ES2217 F ₁ genotípus (Átlag ± SD)
Földfeletti biomassa (g)	Optimális N	4,66 ± 0,19 ^{Aa}	5,40 ± 0,62 ^{Ab}
	Alacsony N	4,33 ± 0,23 ^{Aa}	3,76 ± 1,09 ^{Aa}
Levél NO ₃ ⁻ tartalom (mg/g FW)	Optimális N	0,51 ± 0,05 ^{Ab}	0,42 ± 0,01 ^{Ab}
	Alacsony N	0,13 ± 0,05 ^{Aa}	0,10 ± 0,01 ^{Aa}
Teljes levél N (%)	Optimális N	3,30 ± 0,74 ^{Ab}	3,00 ± 0,48 ^{Ab}
	Alacsony N	2,57 ± 0,37 ^{Aa}	2,32 ± 0,68 ^{Aa}
Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	Optimális N	2,39 ± 0,02 ^{Ab}	2,34 ± 0,22 ^{Ab}
	Alacsony N	1,42 ± 0,14 ^{Aa}	1,26 ± 0,17 ^{Aa}
Karotinoidok (mg/g FW)	Optimális N	0,49 ± 0,02 ^{Ab}	0,48 ± 0,04 ^{Ab}
	Alacsony N	0,32 ± 0,02 ^{Aa}	0,30 ± 0,03 ^{Aa}
Nem-fotokémiai kioltás (NPQ)	Optimális N	1,15 ± 0,16 ^{Aa}	0,98 ± 0,40 ^{Aa}
	Alacsony N	1,50 ± 0,43 ^{Ab}	1,17 ± 0,28 ^{Ab}
Fotokémiai kioltás (1-qP)	Optimális N	0,43 ± 0,02 ^{Aa}	0,45 ± 0,03 ^{Aa}
	Alacsony N	0,56 ± 0,02 ^{Ab}	0,48 ± 0,13 ^{Aa}
Elektrontranszport ráta (ETR)	Optimális N	38,22 ± 4,77 ^{Ab}	46,26 ± 5,02 ^{Bb}
	Alacsony N	31,43 ± 1,57 ^{Aa}	39,69 ± 7,79 ^{Ba}
PSII maximális fotokémiai hatásfoka (Fv/Fm)	Optimális N	0,78 ± 0,04 ^{Aa}	0,83 ± 0,02 ^{Ba}
	Alacsony N	0,75 ± 0,07 ^{Aa}	0,81 ± 0,03 ^{Ba}
Tilakoidmembrán integritása (Fo/Fm)	Optimális N	0,22 ± 0,04 ^{Aa}	0,17 ± 0,02 ^{Ba}
	Alacsony N	0,25 ± 0,07 ^{Aa}	0,19 ± 0,03 ^{Ba}
PSII tényleges kvantumhatásfoka Y(II)	Optimális N	0,30 ± 0,04 ^{Ab}	0,37 ± 0,04 ^{Bb}
	Alacsony N	0,26 ± 0,03 ^{Aa}	0,32 ± 0,06 ^{Ba}
Relatív víztartalom RWC (%)	Optimális N	84,15 ± 5,10 ^{Aa}	88,14 ± 10,61 ^{Aa}
	Alacsony N	82,99 ± 6,96 ^{Aa}	86,25 ± 5,56 ^{Aa}
Membránstabilitási index MSI (%)	Optimális N	86,81 ± 2,40 ^{Aa}	82,82 ± 3,74 ^{Aa}
	Alacsony N	86,72 ± 1,96 ^{Aa}	78,61 ± 4,71 ^{Bb}
Antioxidáns kapacitás AC (µg/ml)	Optimális N	514,01 ± 95,36 ^{Aa}	465,24 ± 147,23 ^{Ba}
	Alacsony N	662,55 ± 131,07 ^{Ab}	515,52 ± 37,06 ^{Bb}
Teljes polifenol tartalom TPC (mg/l GE)	Optimális N	542,40 ± 24,47 ^{Aa}	448,83 ± 65,97 ^{Aa}
	Alacsony N	592,98 ± 35,30 ^{Ab}	621,78 ± 200,15 ^{Ab}

Az eltérő kisbetűk a kezelések (magas és alacsony N-ellátás) közötti szignifikáns különbségeket jelzik azonos genotípuson belül. Az eltérő nagybetűk a genotípusok közötti szignifikáns különbségeket jelzik azonos kezelési feltételek mellett ($p < 0,05$).

A BIS alacsony frekvenciatartományban jelentősen növekedett N-hiány esetén mindkét uborka genotípusban (20. ábra A-B). A Nyquist-diagramok (20. ábra C-D) szélesebb félkörívei, különösen Nairobi F1 esetében jelentősebbek, amely magasabb kapacitív csúcsot mutatott, jelezve a membránkapacitás jobb megőrzését. Ez összhangban áll a genotípus magasabb

membránstabilitási indexével is, ami alátámasztja, hogy a BIS-értékeket a tápanyaghiány mellett a genotípus sajátos elektrofiziológiai válaszai is befolyásolják.

Mivel a levélszövetek víztartalma szignifikánsan befolyásolhatja a BIS paramétereket (Basak et al. 2020a; Jamaludin et al. 2015; Serrano-Finetti et al. 2023), fontos kiemelni, hogy jelen kísérletben a relatív víztartalom egyik genotípus esetében sem különbözött szignifikánsan, így az impedanciaváltozások kizárólag az N-hiány okozta membrán- és ionvezetési módosulásokat tükrözhetik.



20. ábra: A két uborka genotípus leveleinek bioimpedancia spektrumának változásai, különböző kezelt minták frekvenciafüggvényeként ábrázolva. A két uborka genotípus Bode-diagramjai (A és C) és Nyquist -diagramjai (B és D). (MN: 11mM összes N, AN: 2,2 mM összes N).

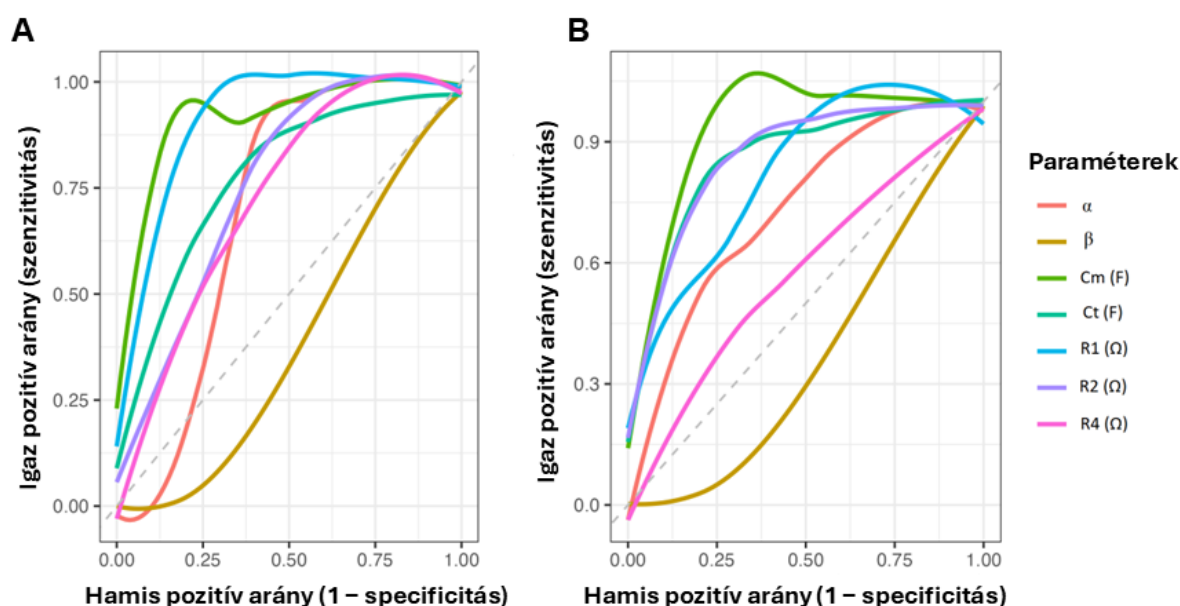
A MANOVA szignifikáns hatást mutatott ki a genotípus (Wilks' $\lambda = 0,56$; $F_{(7, 82)} = 32,55$; $p < 0,001$; parciális $\eta^2 = 0,44$), a kezelés (Wilks' $\lambda = 0,35$; $F_{(7, 82)} = 76,95$; $p < 0,001$; parciális $\eta^2 = 0,65$), valamint azok kölcsönhatása (Wilks' $\lambda = 0,81$; $F_{(7, 82)} = 9,98$; $p < 0,001$; parciális $\eta^2 =$

0,19) esetében a BIS-paraméterekre vonatkozóan. A részletes többváltozós eredményeket a **Függelék 4. táblázat** tartalmazza. Mindkét genotípus esetében az R_1 , R_2 és R_4 ellenállásértékek szignifikánsan magasabbak voltak ($p < 0,05$) alacsony N-ellátás mellett, mint optimális N-szint esetén. Az R_2 esetében a 'Nairobi F₁' genotípus mindkét kezelésnél következetesen magasabb értékeket mutatott, mint az 'ES2217 F₁'. Ezzel szemben az R_1 ellenállás esetében az 'ES2217 F₁' genotípus alacsony N-ellátás mellett magasabb értékeket mutatott, míg optimális N-kezelés esetén nem volt kimutatható szignifikáns különbség a genotípusok között ($p > 0,05$). A C_m értéke mindkét genotípus esetében szignifikánsan csökkent ($p < 0,05$) alacsony N-ellátás mellett, ugyanakkor optimális N-szinten az 'ES2217 F₁' genotípus magasabb értékeket mutatott, mint a 'Nairobi F₁'. A C_t paraméter szignifikáns különbségeket mutatott a genotípusok és kezelések között, alacsony N-ellátás mellett a 'Nairobi F₁' genotípus szignifikánsan magasabb értékével ($p < 0,05$). Az α és β exponens paraméterek csak kisebb mértékű változásokat mutattak. A β paraméter mindkét genotípus esetében szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0,05$) optimális N-ellátás mellett. A részletes értékeket és statisztikai összehasonlításokat a **Függelék 5. táblázat** tartalmazza.

A ROC-analízis (**21. ábra**) statisztikailag igazolta, hogy az R_1 ellenállása, az R_2 ellenállása és a C_m rendelkezik a legerősebb diagnosztikai teljesítménnyel a N-hiány korai elkülönítésében.

Az 'ES2217 F₁' genotípusban az R_1 és a C_m mutatta a legjobb elkülönítő képességet (AUC = 0,91), magas pontossággal (0,87-0,89), kiegyensúlyozott szenzitivitással és specificitással (0,87-0,91). Az R_2 ellenállás közepes, de stabil teljesítményt adott (AUC = 0,76), míg az R_4 és a C_t mérsékelt (AUC = 0,71-0,77) elkülönítést biztosított. Az α exponens paraméter gyenge, míg a β paraméter pedig nagyon gyenge diagnosztikai értéket mutatott (AUC = 0,69 és 0,42) (**20. ábra A, Függelék 6. táblázat**).

A 'Nairobi F₁' genotípusban a C_m bizonyult a legerősebb mutatónak (AUC = 0,92, pontosság = 0,91, szenzitivitás = 1,00), amit az R_2 követett (AUC = 0,86). Az R_1 és a C_t közepes teljesítményt mutatott (AUC = 0,83 és 0,85), míg az α paraméter és különösen az R_4 gyenge elkülönítő képességgel rendelkezett (AUC = 0,73 és 0,57). A β paraméter mindkét genotípusban a leggyengébb prediktornak bizonyult (AUC = 0,41-0,42) (**20. ábra B, Függelék 7. táblázat**).



21. ábra: A) A BIS-modell paramétereinek diszkriminációs teljesítménye a különböző nitrogénellátottsági szintek (optimális N, alacsony N) elkülönítésében az ‘ES2217 F₁’ uborka genotípus esetében ROC-analízis alapján. B) A BIS-modell paramétereinek diszkriminációs teljesítménye a különböző nitrogénellátottsági szintek (optimális N, alacsony N) elkülönítésében az ‘Nairobi F₁’ uborka genotípus esetében ROC-analízis alapján. Extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).

Az eredményeink jól illeszkednek a korábbi kutatásokhoz, amelyek szerint az R_1 ellenállás érzékenyen követi a levelek NO_3^- -ellátottságának változásait (Nikolic et al. 2012), míg az R_2 ellenállás elsősorban a citoplazma ionkészletének csökkenésére reagál (Li et al. 2022). Emellett a C_m a membrán dielektromos tulajdonságainak korai és megbízható indikátoraként használható (Azzarello et al. 2012). Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy a BIS-mérés nem ion-specifikus módszer, így az elektromos válaszok az extracelluláris ionösszetétel együttes hatását tükrözik. Bár a jelen vizsgálatban a NO_3^- domináns szerepet játszott a kezelt rendszerekben, más ionok (pl. K^+ , Ca^{2+}) hozzájárulása sem zárható ki (Li et al. 2022), és ezek hatását a jelen kísérlet nem különítette el.

4.4 Eltérő nitrogénellátottság és szárazságstressz együttes hatása a bioimpedancia- és növényélettani paraméterekre

Az eddigi kísérletek statisztikailag igazolták, hogy a BIS-paraméterek érzékeny módon reagálnak a növények N-ellátottságával összefüggő biofizikai változásokra, és lehetőséget nyújtanak a különböző sejttéri folyamatok elkülönített vizsgálatára. Ugyanakkor fontos hangsúlyozni, hogy a BIS-mérés nem ion-specifikus módszer, így az elektromos válaszok az extracelluláris és intracelluláris ionösszetétel együttes hatását tükrözik. Ennek megfelelően a

jelen vizsgálatban megfigyelt összefüggések elsősorban a NO_3^- domináns szerepével magyarázhatók. Ugyanakkor a természetes környezetben a növények ritkán vannak kitéve izolált stresszhatásoknak, hanem több abiotikus tényező együttes hatása érvényesül. Különösen fontos a vízhiány és a tápanyagellátottság kölcsönhatása, mivel a vízstressz befolyásolhatja az ionfelvételt, az iontranszportot és a sejten belüli tápanyageloszlást. Ennek megfelelően a jelen kísérletben az eltérő N-ellátottság és a vízhiány együttes hatását vizsgáltuk uborkanövényeken, kontrollált körülmények között. A vizsgálat célja annak feltárása volt, hogy a vízstressz miként módosítja a N-ellátottság és a BIS-paraméterek közötti kapcsolatokat.

A növényélettani paraméterek közül elsősorban a CCI és az RWC mutatott szignifikáns különbségeket a N és stressz fázisok közötti interakcióban (**6. táblázat**). A maximális és a korlátozott tápanyagellátás fázisában (S1-S2) a NO_3^- kezelés eredményezte a legmagasabb CCI értékeket, ami a NO_3^- alapú N-ellátás jól ismert klorofill-bioszintézist és fotoszintetikus hatékonyságát fokozozó hatásával áll összhangban (Foyer 2002; Masclaux-Daubresse et al. 2010). A kontroll kezelésben ezzel szemben már korán alacsonyabb pigmenttartalom mutatkozott, ami a N-csökkenéséhez kapcsolódó klorofill koncentráció csökkenést, tilakoid-rendszer gyengülést tükröz (Gaude et al. 2007; Asad et al. 2023).

Az S3 fázisban az NH_4NO_3 és a gyapjú pellet kezelések tartották fenn a legmagasabb CCI értékeket, míg a NO_3^- kezelések és különösen a kontroll növények pigmentartalma alacsonyabb volt. Ez arra utal, hogy a kevert (NH_4NO_3) vagy lassú feltáródású N-források a vízhiány alatt hatékonyabban stabilizálják a pigmentanyagcserét, feltehetően az ozmotikus egyensúly és a N-mobilizáció hatékonyabb szabályozásán keresztül (Britto és Kronzucker 2002; Esteban et al. 2016). Az S4 fázisban az NH_4NO_3 és gyapjú pellet kezelések ismét magasabb CCI biztosítottak, ami a stressz utáni helyreállási fázisban fennmaradó magasabb pigment- és N-tartalmat jelzi. Ezzel szemben a klorofill-fluoreszcencia paraméterek (F_v/F_m , F_o/F_m) egyik fázisban sem mutattak szignifikáns különbséget a kezelések között (**10. táblázat**). Az F_v/F_m mindegyik fázisban a C3 növényekre jellemző optimális tartományban maradt (Baker 2008; Kalaji et al. 2014), ami arra utal, hogy a beállított N- és stresszkezelések nem idéztek elő tartós PSII-fotokárosodást. Ez összhangban van azzal a megfigyeléssel, hogy a növények pigmenttartalma korábban és érzékenyebben reagál a tápanyaghiányra, mint a PSII maximális kvantumhatásfoka (Guidi és Calatayud, 2014).

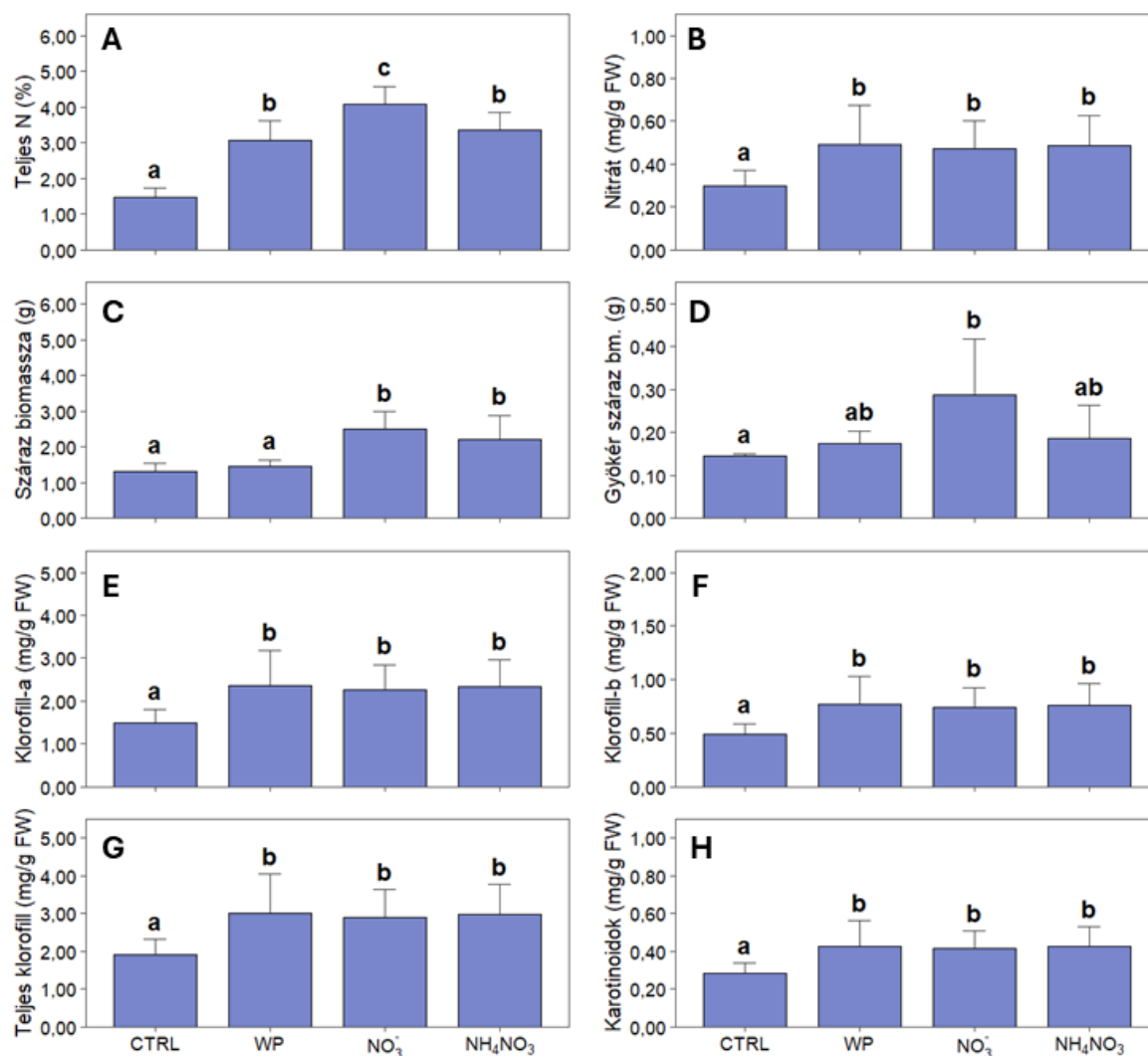
A kontroll növények a legtöbb fázisban (különösen S2-S3) a legmagasabb RWC-vel rendelkeztek, amit a csökkent N-ellátottsághoz kapcsolódó visszafogott növekedés, kisebb levélfelület és alacsonyabb transzspirációs igény magyarázhat (Chaves et al. 2009). A NO_3^- és gyapjú pellet kezelésekben a vízstressz alatt (S3) szignifikánsan alacsonyabb RWC mutatkozott, míg a NH_4NO_3 kezelésekben az RWC magasabb volt, ami a N-ellátás ozmoregulációt javító, valamint turgort fenntartó hormonális hatásaival hozható összefüggésbe (Song et al. 2019).

10. táblázat: Uborkanövények növényélettani változásai a különböző nitrogénkezelések és stresszfázisok alatt. CTRL = kontrollnövények; WP = gyapjúpellet-kezelés; NO_3^- = nitrátellátás; NH_4NO_3 = kombinált ammónium-nitrát-kezelés.

Stressz fázisok	Kezelés	CCI	<i>Fv/Fm</i>	<i>Fo/Fm</i>	RWC (%)
S1: optimális tápanyagellátás	CTRL	17,50 ± 5,00 ^{Aa}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	87,50 ± 5,00 ^{Aa}
	NH_4NO_3	22,50 ± 5,00 ^{Aa}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,02 ^{Aa}	85,00 ± 5,77 ^{Ba}
	NO_3	30,00 ± 0,01 ^{Bb}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,02 ^{Aa}	77,50 ± 9,57 ^{Ba}
	WP	20,00 ± 0,01 ^{Aa}	0,80 ± 0,02 ^{Aa}	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	82,50 ± 5,00 ^{Ba}
S2: csökkent tápanyagellátás	CTRL	15,00 ± 5,77 ^{Aa}	0,78 ± 0,05 ^{Aa}	0,23 ± 0,05 ^{Aa}	90,00 ± 0,01 ^{Aa}
	NH_4NO_3	27,50 ± 5,00 ^{Ab}	0,80 ± 0,02 ^{Aa}	0,20 ± 0,02 ^{Aa}	82,50 ± 5,00 ^{ABa}
	NO_3	30,00 ± 0,01 ^{Bb}	0,80 ± 0,03 ^{Aa}	0,20 ± 0,02 ^{Aa}	85,00 ± 10,00 ^{Ba}
	WP	30,00 ± 0,01 ^{BCb}	0,80 ± 0,03 ^{Aa}	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	82,50 ± 5,00 ^{Ba}
S3: szárazságstressz	CTRL	15,00 ± 5,77 ^{Aa}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,02 ^{Aa}	90,00 ± 0,01 ^{Ac}
	NH_4NO_3	35,00 ± 12,91 ^{Aab}	0,78 ± 0,05 ^{Aa}	0,23 ± 0,05 ^{Aa}	75,00 ± 5,77 ^{Ab}
	NO_3	25,00 ± 5,77 ^{ABb}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	60,00 ± 14,14 ^{Aa}
	WP	35,00 ± 5,77 ^{Cb}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,02 ^{Aa}	67,50 ± 9,57 ^{Aab}
S4: rehidratációs fázis	CTRL	12,50 ± 5,00 ^{Aa}	0,79 ± 0,03 ^{Aa}	0,23 ± 0,05 ^{Aa}	80,00 ± 8,16 ^{Ba}
	NH_4NO_3	30,00 ± 10,00 ^{Aab}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,02 ^{Aa}	73,33 ± 5,77 ^{Aa}
	NO_3	22,50 ± 5,00 ^{Aab}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	80,00 ± 0,01 ^{Ba}
	WP	22,50 ± 9,57 ^{ABb}	0,80 ± 0,01 ^{Aa}	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	72,50 ± 5,00 ^{ABa}
MANOVA	Fázis	*	ns	ns	***
	Kezelés	*	ns	ns	***
	FXK	*	ns	ns	***

A különböző betűk mutatják a szignifikáns eltérést a Tukey-féle post hoc szerint ($p < 0,05$). A kisbetűk az egyes fázisok belüli kezelések közötti különbségeket jelzik, míg a nagybetűk a fázisok közötti különbségeket mutatják ugyanazon kezeléson belül. A $p < 0,001$ (**) szignifikáns különbséget jeleznek; ns = nincs statisztikailag igazolható szignifikáns különbség.

A kísérlet végén (S4) a teljes levél N-tartalom és a biomassa adatok statisztikailag szignifikánsan elkülönítették a kezeléseket (**22. ábra**). Az NO_3^- kezelésben részesült növények leveleiben volt a legmagasabb összes N%, a NO_3^- tartalom, valamint a NH_4NO_3 kezelések esetében pedig szignifikánsan nagyobb biomassza- és gyökértömeget eredményeztek a kontroll kezeléshez viszonyítva.



22. ábra: Különböző N-kezelések hatása az uborkanövények növekedésére, N-felhalmozódására és pigmentösszetételére a kísérlet végén. **A)** Teljes N-tartalom a levelekben (%). **B)** Nitrát-tartalom a levelekben, **C)** Száraz biomassa, **D)** Gyökér száraz biomassa, **E)** Klorofill a-tartalom, **F)** Klorofill b-tartalom, **G)** Teljes klorofill-tartalom, **H)** Karotinoid-tartalom. A különböző kisbetűk a Tukey-féle post hoc teszt szerinti különbségeket jelzik ($p < 0,05$). CTRL = kontrollnövények; WP = gyapjúpellet-kezelés; NO_3^- = nitrátkezelés; NH_4NO_3 = kombinált ammónium-nitrát-kezelés.

A talajtani paraméterek megerősítették, hogy a legkisebb összes mineralizálódott N a kontroll talajban volt, míg az NH_4NO_3 kezelés adta a legmagasabb értékeket. A gyapjú pellet szignifikánsan csökkentette a pH-t, ami az intenzív ammónium-nitrifikáció következménye

(Manzoni és Porporato, 2009). A NO_3^- kezelés nem módosította lényegesen a pH-t, míg az NH_4NO_3 kezelés enyhe lúgos irányba tolta el azt (**11. táblázat**).

11. táblázat: A talaj ásványi nitrogéntartalma (NH_4^+ és NO_3^- formában) és a talaj pH-ja a kísérlet végén különböző N-kezelések mellett. CTRL = kontrollnövények; WP = gyapjúpellet-kezelés; NO_3^- = nitrátellátás; NH_4NO_3 = kombinált ammónium-nitrát-kezelés.

Kezelés	$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/kg)	$\text{NH}_4\text{-N}$ (mg/kg)	$\text{NH}_4+\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/kg)	pH
CTRL	6.45 ± 1.11^a	0.32 ± 0.01^a	6.77 ± 1.18^a	7.79 ± 0.03^b
WP	11.14 ± 1.01^b	0.55 ± 0.02^b	11.70 ± 1.26^b	7.19 ± 0.34^a
NO_3^-	9.00 ± 0.99^{ab}	0.45 ± 0.01^{ab}	9.99 ± 0.13^b	7.62 ± 0.50^{ab}
NH_4NO_3	12.81 ± 2.40^b	0.64 ± 0.01^b	13.45 ± 1.40^b	8.07 ± 0.18^b

Az eltérő betűk a kezelések közötti szignifikáns különbségeket jelzik a Tukey-féle post hoc teszt alapján ($p < 0,05$).

Az előzőekben bemutatott növényélettani paraméterekkel párhuzamosan az uborkanövények BIS paraméterei is szignifikáns eltérést mutattak az eltérő N-ellátottság és a vízellátás interakcióban. A MANOVA egyértelműen jelezte, hogy mind a stresszfázisok (Wilks' $\lambda = 0,63$; $p < 0,001$), mind a kezelések (Wilks' $\lambda = 0,43$; $p < 0,001$), valamint a stresszfázisok és kezelések interakció is szignifikáns (Wilks' $\lambda = 0,39$, $p < 0,001$) hatást gyakorolt a BIS-paraméterekre, ami azt támasztja alá, hogy a sejtszintű elektromos tulajdonságok követik az N- és víztartalom kombinált változásait (Li et al. 2017; Prasad és Roy, 2020).

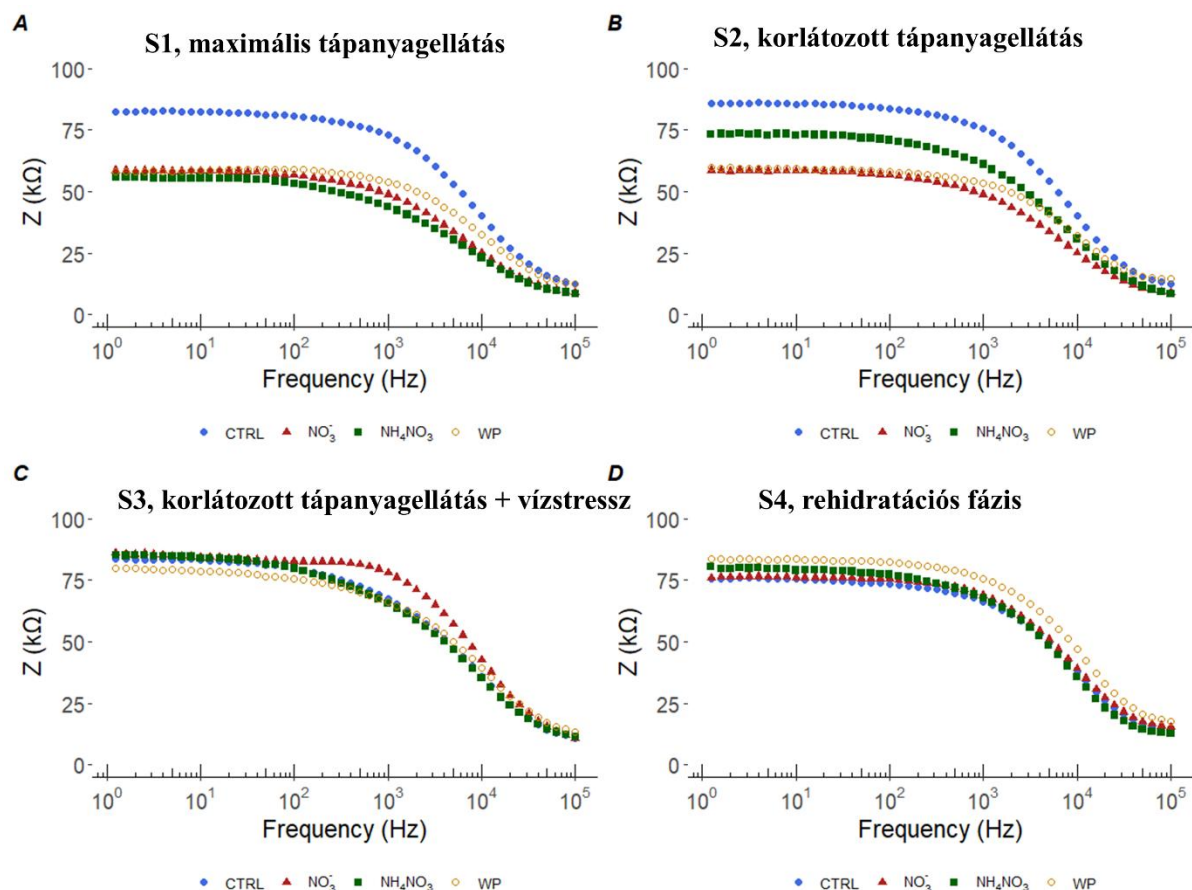
A Bode-diagramok alapján S1-ben a kontroll növények mutatták a legmagasabb impedancia-modulust a teljes frekvenciatartományban, míg a NO_3^- , NH_4NO_3 és a gyapjú pellet kezelések alacsonyabb impedancia-értékek mellett, egymáshoz közel helyezkedtek el. Ez azt mutatja, hogy már a kísérlet kezdetén is egyértelműen jelentkezett a megfelelő N-ellátás vezetőképességet fokozó hatása, függetlenül a N-forma jellegétől fokozza az ionvezetést és csökkenti a szövetek ellenállását a kontrollhoz képest (Muñoz-Huerta et al. 2014; Li et al. 2017; Zhang et al. 2025).

S2-ben ezek a különbségek tovább erősödtek: a kontroll és az NH_4NO_3 kezelés a közepes frekvenciatartományban ($10^2\text{-}10^3$ Hz) magasabb impedanciát tartott fenn, míg a NO_3^- és a gyapjú pelletes kezelésekben a BIS-görbék végig alacsonyabb értékeket mutattak, ami az apoplaszt és a membránkompartmentek jobb vezetőképességére utalhat (Nouaze et al. 2022; Serrano-Finetti et al. 2023).

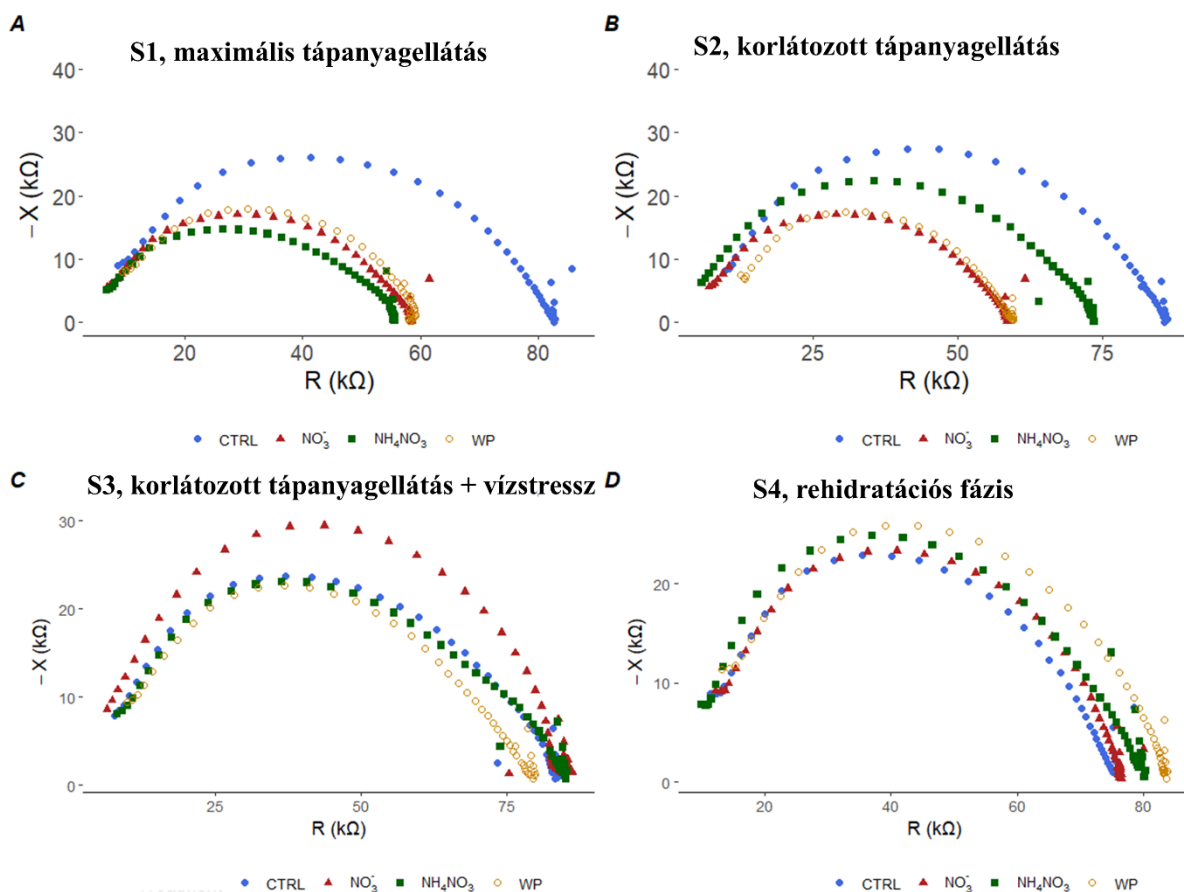
A kombinált tápanyag- és vízstressz (S3) során az alacsony frekvenciákon, ahol döntően az R_1 ellenállás érvényesül általános impedancianövekedés volt megfigyelhető, az NO_3^- ellátott

növények pedig különösen magas impedancia-értékekkel jelezték a szárazságra adott rezisztív választ.

Rehidratációt követően (S4) a kezelések közötti különbségek mérséklődtek; a kontroll, a NO_3 és az NH_4NO_3 kezelések esetében a BIS-görbék részben közelítettek egymáshoz, míg a gyapjú pellet kezelés tartósan magasabb impedancia-szinten maradt, ami a gyapjúpellet lassú N-feltárádásából adódó elnyújtott hatásra utal (Kovács et al. 2024, 2025c) (**23-24. ábra**).



23. ábra: Az impedancia nagyságának (Z , $\text{k}\Omega$) Bode-diagramjai a frekvencia (1 Hz-100 kHz) függvényében, különböző N- és vízellátási kezeléseknek kitett uborka levelekbe. Az ábrák a következőket ábrázolják: **A)** S1, maximális tápanyagellátás; **B)** S2, korlátozott tápanyagellátás; **C)** S3, korlátozott tápanyagellátás vízhiánnyal kombinálva; és **D)** S4, rehidratációs fázis. Minden adatpont öt független biológiai ismétlés átlagát jelenti. A szimbólumok az alkalmazott tápanyagkezeléseket jelzik (CTRL = kontroll növények; WP = gyapjúpellet kezelés; NO_3^- = nitrátellátás; NH_4NO_3 = kombinált ammónium-nitrát kezelés).



24. ábra: Nyquist-diagramok, amelyek az impedancia valós (R , $k\Omega$) és a reaktancia ($-X$, $k\Omega$) közötti kapcsolatot mutatják, a különböző N- és vízstressz-kezeléseknek kitett uborka levelekben. Az ábrák a következőket ábrázolják: **A)** S1, maximális tápanyagellátás; **B)** S2, korlátozott tápanyagellátás; **C)** S3, korlátozott tápanyagellátás vízstresszrel kombinálva; és **D)** S4, rehidratációs fázis. Minden adatpont öt független biológiai ismétlés átlagát jelenti. A szimbólumok az alkalmazott tápanyagkezeléseket jelzik (CTRL = kontroll növények; WP = gyapjúpellet kezelés; NO_3^- = nitrátellátás; NH_4NO_3 = kombinált ammónium-nitrát kezelés).

Az ekvivalens DBS modell paramétereinek elemzése lehetővé tette, hogy a fenti spektrális különbségek milyen sejtszintű kompartmentumokhoz köthetők (Zhang és Willison, 1992; Nouaze et al. 2022).

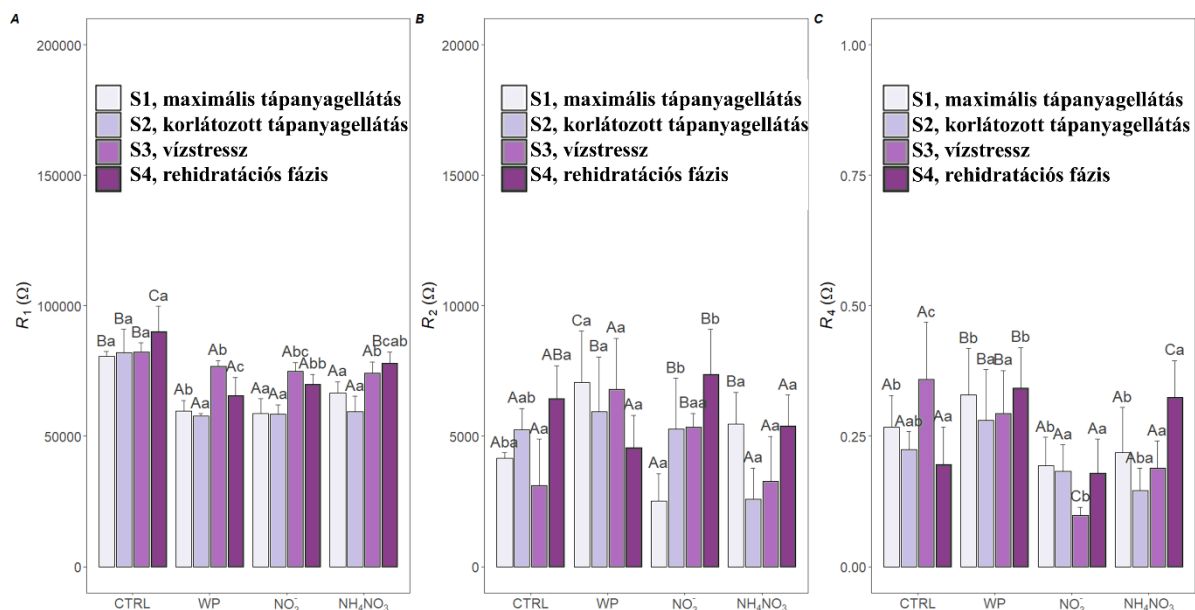
Az R_1 ellenállás minden fázisában a kontroll növényekben volt a legmagasabb, és S1-től S4-ig fokozatos növekedést mutatott, míg az NO_3^- és az NH_4NO_3 kezelésekben végig alacsonyabb maradt (**25. ábra A**). Ez arra utal, hogy a NO_3^- és a kombinált NH_4NO_3 -ellátás javítja az apoplaszt ionvezetését, és mérsékli a víz- és N-hiány által kiváltott stresszt (Repo et al. 2000; Muñoz-Huerta et al. 2014; Li et al. 2017; Zhang et al. 2025). A gyapjú pelletes kezelés az S3-ban szintén szignifikánsan magas R_1 ellenállás értékeket adott, ami arra utal, hogy a lassan feltáródó szerves N esetén az apoplaszt ellenállása a kombinált stressz alatt tovább fokozódhat,

ugyanakkor ennek mértéke a talajtípustól is erősen függhet (Ordiales et al. 2016; Kovács et al. 2024, 2025b, 2025c).

Az R_2 ellenállása a gyapjú pellet kezelésben volt a legnagyobb, különösen S1-ben és S3-ban, ami a sejten belüli ionmobilitás korlátozottságát és a citoplazma vezetőképességének gyengülését jelzi lassú N-ellátás mellett. A kontroll növények általában közepes R_2 -értékeket mutatattak, de S4-ben azonban emelkedés volt megfigyelhető, ami a stressz utáni citoplazmatikus vezetőképesség tartósabb romlására utal. Az NO_3^- és NH_4NO_3 kezelésekben ezzel szemben az R_2 ellenállás alacsonyabb és stabilabb maradt, összhangban azzal, hogy a megfelelően rendelkezésre álló ásványi N-forma a stresszfázisok alatt is segíti a citoplazma ionháztartásának fenntartását (Li et al. 2017; Ghoneim et al. 2022) **(25. ábra B)**.

Az R_4 ellenállás tekintetében, mind a kezelések, mind a fázisok szerint szignifikáns különbséget mutatott. A kontroll növények leveleiben az R_4 ellenállása különösen S3-ban növekedett meg, ami a vízhiány és az N-hiány együttes hatására jelentősen gyengülő vakuólumfunkcióra és alacsony NO_3^- -, illetve ozmolit-koncentrációra utal (Wang et al. 2012; Xu et al. 2012). A gyapjú pelletes kezelés minden fázisban magas, és több esetben szignifikánsan magasabb R_4 ellenállás értékeket mutatott, ami a lassú N-feltáródás következtében tartósan alacsonyabb vakuólum-iontartalommal magyarázható (Li et al. 2013; Kovács et al. 2024).

Ezzel szemben a NO_3^- kezelésre jellemzően alacsonyabb R_4 ellenállás volt megfigyelhető, különösen a kombinált stresszfázisban (S3), ami a vakuólumba történő intenzívebb NO_3^- raktározást tükrözi, összhangban azzal, hogy a vakuólum a levél NO_3^- -tartalom fő raktározó szerve (Crawford és Glass, 1998; Masclaux-Daubresse et al. 2010). Az NH_4NO_3 kezelésben S4-ben figyelhető meg markáns az R_4 ellenállás emelkedése, ami a rehidratáció utáni, az egyes N-formákra jellemző eltérő ioneloszlási dinamikát jelzheti (Xu et al. 2012) **(25. ábra C)**.

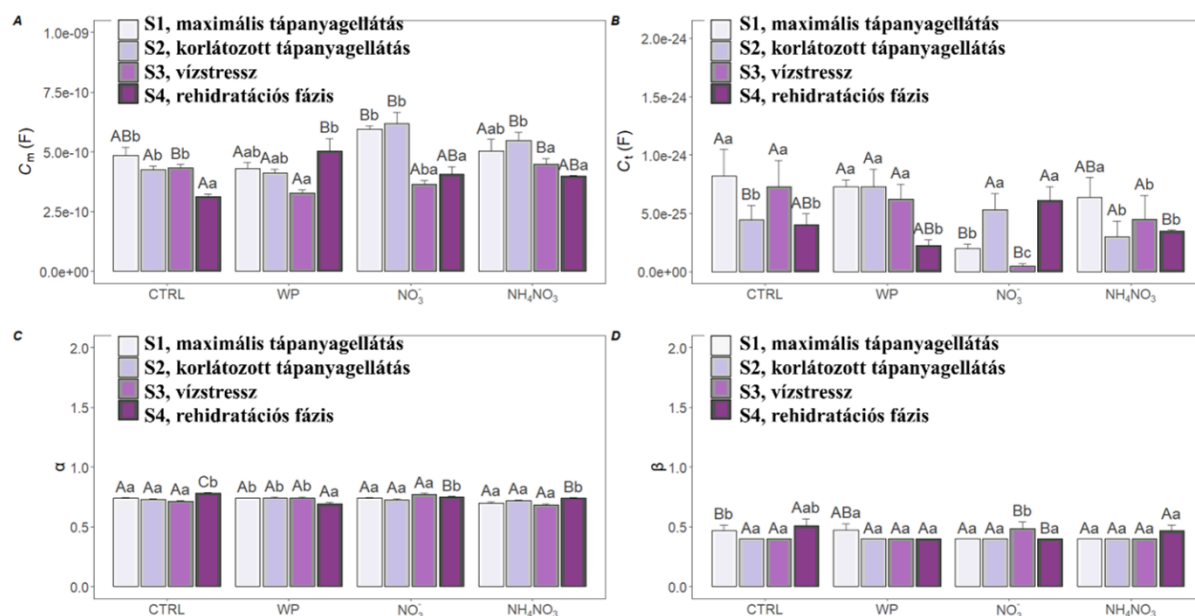


25. ábra: Az N-kezelések hatása az uborka levél sejtek elektromos ellenállási paramétereire a fiziológiai fázisok során. **A)** extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), **B)** intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), **C)** vakuólumfolyadék ellenállása (R_4) (Tukey-féle post hoc alapján, $p < 0.05$).

A dielektromos paraméterek közül a C_m mutatkozott a legérzékenyebb paraméternek. A NO₃⁻ ellátás az S1-S2-ben biztosította a legmagasabb C_m -értékeket, ami a plazmamembrán jó hidratáltságára, strukturális épségére és magas dielektromos állandójára utal, összhangban korábbi megfigyelésekkel, miszerint megfelelő N-ellátás mellett a membránkapacitás magasabb, míg N-hiány és szárazság esetén csökken (Jamaludin et al. 2015; Jinyang et al. 2016; Zhang et al. 2024). A kontroll kezelésben összességében a legalacsonyabb C_m -értékek fordultak elő, ami megerősíti, hogy tartós N-hiány mellett a membránrendszer dielektromos tulajdonságai romlanak a legnagyobb mértékben. A WP kezelés a kísérlet elején alacsonyabb C_m indult, majd S4-ben szignifikáns emelkedést mutatott; ez jól illeszkedik a gypjúpellet lassú N-felszabadulásához és a rehidratációs szakaszban fokozatosan helyreálló membránstabilitáshoz (Ordiales et al. 2016; Kovács et al. 2024, 2025b, 2025c) (**26. ábra**).

A kontroll növényekben az S1-fázisban magasabb C_t volt megfigyelhető, amely S2-ben visszaesett, S3-ban pedig ismét emelkedett, jelezve a vakuólum-membrán strukturális és funkcionális instabilitását változó tápanyag- és vízellátás mellett. A NO₃⁻ kezelésben ezzel szemben az S1-S3 fázisok között következetesen alacsonyabb C_t értékek jelentek meg, ami stabilabb tonoplasztra utal, míg a WP kezelés több fázisban is magas C_t értékeket eredményezett. Ezek az eredmények összhangban vannak azzal, hogy a CPE-elemek (Q_3 , Q_5) és azok exponensei (α , β) a membránok nemideális kapacitív viselkedését írják le, amely

stresszhatásokra érzékenyen változik (López-Villanueva és Rodríguez Bolívar, 2022; Nouaze et al. 2022).



26. ábra: Az N-kezelések hatása az uborka levél sejtek elektromos kapacitás paramétereire a fiziológiai fázisok során: **A)** sejtmembrán kapacitása (C_m), **B)** vakuólum-membrán kapacitása (C_t), **C)** az α paraméter (a vakuólum-membránhoz kapcsolódó exponens paraméter), **D)** a β paraméter (a plazmamembránhoz kapcsolódó exponens paraméter). (Tukey-féle post hoc teszt alapján, $p < 0.05$).

A kísérlet végén (S4) kapott korrelációs eredmények (levél NO₃⁻, összes levél N%, pigmenttartalom, RWC és a BIS paraméterek) tovább erősítették az R_4 - és R_1 ellenállás jelentőségét. A levél NO₃⁻ -tartalom erős szignifikáns korrelációt mutatott a klorofill- és karotinoid-koncentrációkkal, míg az R_1 ellenállással mérsékelt negatív kapcsolat ($r = -0,32$), az R_4 ellenállással pedig kifejezetten erős negatív korreláció volt megfigyelhető ($r = -0,74$), jelezve, hogy a vakuólum NO₃⁻ -raktározása közvetlenül tükröződik az R_4 ellenállás értékekben (Crawford és Glass, 1998; Foyer és Zhang, 2010; Li et al. 2013; Narasimhan et al. 2013). Az összes levél N%, pozitív összefüggést mutatott a C_t , R_2 , R_1 ellenállásokkal, míg negatív korreláció volt megfigyelhető, a C_m értékével ami arra utal, hogy az N-ellátottság javulása egyidejűleg jár együtt jobb citoplazmatikus és vakuólum-ionháztartással, valamint stabilabb membrándielektromos tulajdonságokkal (Crawford és Glass, 1998; Foyer és Zhang, 2010; Li et al. 2013).

Összefoglalva, saját eredményeink alapján az R_1 , az R_4 ellenállása és a C_m együttesen olyan BIS diagnosztikai paramétereket alkotnak, amely nagy érzékenységgel jelzik a talajban nevelt uborkanövények N-ellátottságát és a vízstressz stádiumait. A R_4 ellenállása különösen jó NO₃⁻

indikátornak bizonyult, míg az R_1 ellenállás az N- és a levél szövetek víztartalma által kiváltott összetett és részben átfedő elektromos hatásait tükrözi. A C_m a korai N-állapot-jelzőként (S1-S2) és a rehidratációs dinamika indikátoraként (S4) értelmezhető. Ugyanakkor talajos termesztés esetében a talaj pufferkapacitása és biológiai aktivitása miatt a BIS-adatok értelmezését célszerű pigment- és levél NO_3^- -analízissel kiegészíteni a félreértelmezések elkerülése érdekében.

4.5 Eredmények összefoglalása

Munkám során egy négyelektrodás, *in vivo* növénymérésre alkalmas bioimpedancia rendszert alkalmaztam, amelyet Double-Shell (DBS) modellezéssel és metaheurisztikus (PSO) optimalizálással egészítettem ki. Ez a megközelítés lehetővé tette az apoplaszt (R_1), a citoplazma (R_2) és a vakuólum (R_4), valamint a plazma- és tonoplasztmembrán (C_m , C_t , α , β) elektromos paramétereinek elkülönített elemzését, és ezek szisztematikus összevetését a növények N-ellátottságával, a szövetek víztartalmával és klasszikus növényélettani mutatóival.

A DBS-modell és a PSO-alapú illesztés kombinációja alkalmasnak bizonyult a növények komplex impedancia-válaszának stabil és reprodukálható leírására. A növényélettani kutatások során széles körben alkalmazott ZFIT algoritmussal való összehasonlítás során a PSO kisebb szórást eredményezett a DBS-paraméterek esetében, ami közvetlenül javította a biológiai interpretáció megbízhatóságát. A variancia csökkenése tette lehetővé, hogy a különböző N-szintek (N0–N4), a különböző N-formák, valamint a levélszövetek víztartalma és az ezekhez kapcsolódó fiziológiai állapotok hatásait paraméterszinten, azaz R_2 , R_4 , C_m , C_t , α , β változásain keresztül, következetesen lehessen értelmezni.

A vizsgálatok egymásra épülő kísérleti rendszerben valósultak meg, ahol a paprika modellnövényen végzett vízstressz-kísérletek a módszertani validációt szolgálták, a fejes salátán végzett vizsgálatok a BIS-paraméterek élettani értelmezését alapozták meg, míg az uborkán végzett kísérletek a módszer fajok közötti alkalmazhatóságának és genotípusfüggésének értékelésére irányultak.

Összességében megállapítottam, hogy a DBS sejtmmodell és a metaheurisztikus (PSO) optimalizálás kombinációja nemcsak az impedancia-görbék jó illesztését biztosítja, hanem kellően robusztus ahhoz is, hogy a BIS-paramétereket statisztikai modellekben (MANOVA, ROC-analízis, korrelációs vizsgálatok) diagnosztikai változóként lehessen használni.

Előzetes fejes salátán végzett kísérleteim igazolták, hogy az R_1 ellenállás gyorsan és érzékenyen követi az apoplasztikus NO_3^- -koncentráció változásait, amely a jelen kísérleti rendszerben elsősorban a NO_3^- -tartalom alakulásával hozható összefüggésbe. N-mentes tápoldatban történő tartást követően a levelek impedancia-modulusa, különösen az alacsony frekvenciatartományban megnőtt, míg a $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -oldattal történő telítés után rövid időn belül csökkent a kiindulási állapothoz képest. Ez az alacsony frekvenciákon észlelt impedanciacsökkenés közvetlenül arra utal, hogy az áram döntően az apoplasztban halad, így az R_1 ellenállása az extracelluláris ionösszetétel és ionmobilitás közvetlen indikátora.

A N-kezelések során a salátában az apoplastikus NO_3^- -koncentráció és az R_1 ellenállás között szignifikáns negatív kapcsolatot mutattam ki ($R^2 = -0,67$, $p < 0,01$). A legalacsonyabb NO_3^- -koncentrációt az N0 kezelésben mértem, amely szignifikánsan különbözött a magasabb N-ellátású mintáktól (N1-N4), és ez mutatta a legmagasabb R_1 ellenállást. Az öt N-szint vizsgálata alapján az R_1 ellenállás értékei egyértelműen elkülönítették az N-hiányos és az N-ellátott leveleket.

Uborkában, üvegházi körülmények között szintén az R_1 , R_4 , valamint C_m , bizonyult a legérzékenyebb paraméternek.

A talajon történő termesztés esetében, ahol a N-formák és a levélszövetek víztartalmának interakcióját vizsgáltam, az R_1 ellenállás a kontroll növényekben volt tartósan a legmagasabb, és optimális tápanyagellátástól (S1) a rehidratációs fázisig (S4) fokozatosan növekedett, míg a NO_3^- - és NH_4NO_3 -kezelésekben végig alacsonyabb maradt.

Összességében az eredmények arra utalnak, hogy az R_1 ellenállás érzékenyen reagál az extracelluláris ionösszetétel változásaira, amely a jelen vizsgálati rendszerben szoros kapcsolatot mutatott a levél NO_3^- -tartalmával. Ugyanakkor a BIS-mérés nem ion-specifikus módszer, így az elektromos válaszok az ionok együttes hatását tükrözik, és a NO_3^- szerepe elsősorban a vizsgált kezelések domináns N-formájából adódik.

A vakuólumot reprezentáló R_4 ellenállás, mind salátában, mind uborkában végzett kísérletek során érzékenyen reagált az N-ellátottság változásaira. Salátában a 'Kobak' fajtában az R_4 ellenállás és a levél NO_3^- -tartalma között erősebb ($r = -0,60$, $p < 0,01$), a 'Május királya' gyengébb ($r = -0,44$, $p < 0,05$) negatív korreláció volt kimutatható, ami fajtafüggő NO_3^- -felhalmozásra utal. Mivel a magasabb frekvencián az áram az intracelluláris terekben halad, az R_4 ellenállás változása közvetve a vakuólum NO_3^- -mennyiségét tükrözheti. Talajos termesztés esetében különösen a kombinált stresszfázisban (S3) volt szembetűnő az R_4 ellenállás jelentősége: a kontroll növényekben az R_4 ellenállás jelentősen megnőtt, ami alacsony vakuólum NO_3^- - és ozmolit-koncentrációra utal. A gyapjúpellet-kezelésben az R_4 ellenállás minden fázisban magas, több esetben szignifikánsan magasabb értéket mutatott, ami a lassú N-feltáródás mellett tartósan alacsony vakuólum-iontartalommal hozható összefüggésbe. Ezzel szemben a NO_3^- -kezelésre jellemzően alacsonyabb R_4 ellenállás volt megfigyelhető, különösen a vízstressz idején, amely a levelek vakuólumába történő intenzív NO_3^- -raktározást jelzi. Továbbá az R_4 ellenállás erős negatív korrelációt mutatott a levél NO_3^- -tartalommal ($r =$

-0,74, $p < 0.001$), ami arra utal, hogy az R_4 ellenállás a vakuólum iontartalmának változásait érzékenyen követheti.

A C_m minden vizsgálati rendszerben érzékeny mutatónak bizonyult. A hidrokultúrák salátakísérletekben az alacsony N-ellátás szignifikánsan csökkentette a C_m értékét, és a ‘Kobak’ fajtaban szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az MSI-vel ($r = 0,68$, $p < 0.01$). Ez azt jelzi, hogy N-hiány mellett romlik a membrán fluiditása és töltéstároló képessége, ami a C_m csökkenésében is megmutatkozik. Uborkában, talajos körülmények között a C_m az optimális tápanyagellátás (S1) és a csökkent tápanyagellátás (S2) fázisban NO_3^- -ellátás mellett volt a legmagasabb, míg a kontrollban tartósan alacsony értékeket mutattam ki. A gypjúpellet-kezelésben a C_m kezdetben alacsonyabb volt, majd a rehidratációs fázisban (S4) szignifikánsan emelkedett, jelezve, hogy a lassan felszabaduló szerves N a vízstressz után fokozatosan helyreállítja a membrán diektromos tulajdonságait.

A vízhiányos kísérletek (paprika vízmegvonás, levélszáradás) és a talajos uborka-kísérlet stresszfázisai azt mutatták, hogy a N- és vízstressz hatásai az impedanciában részben átfednek, de paraméterszinten elkülöníthetők.

A vízhiány során:

- az RWC és az R_1 ellenállás között negatív korrelációt figyeltem meg; a vízvesztés az R_1 ellenállás növekedéséhez vezetett,
- az R_1 ellenállás nőtt a levélvastagság csökkenésével is,
- a klorofill-koncentrációs index, az F_v/F_m arány és az membránstabilitási index szintén negatív korrelációt mutattak az R_1 ellenállással, ami az oxidatív stressz miatt a membránkárosodás és ionszivárgás szerepére utal,
- a C_m és az relatív víztartalom között pozitív korreláció ($r = 0,5$, $p < 0.05$), míg az membránstabilitási index és az relatív víztartalom között erős kapcsolat ($r = 0,7$, $p < 0.001$) jelezte, hogy a membránstabilitás kulcsfontosságú a vízháztartás fenntartásában.

A levélszáradási kísérletben a víztartalom csökkenésével párhuzamosan az impedancia növekedett, a görbék az alacsonyabb frekvenciák felé tolódtak, és az R_1 ellenállás emelkedése volt a legmarkánsabb. Az R_2 ellenállás változása bizonytalanabb volt, részben a sejtmembrán-károsodás és az intra és az extracelluláris terek keveredése miatt, míg az R_4 csak kismértékű változást mutatott.

A vízstressz és N-formák együttes hatását vizsgálataim során a kombinált stresszfázisban (S3) az alacsony frekvenciákon általános impedancianövekedés volt megfigyelhető, különösen a NO_3^- -kezelésben, jelezve, hogy a vízhiányra adott rezisztív válasz a jól N-ellátott növényekben is erőteljes.

Továbbá, kísérleteim egyértelműen rámutattak a fajtafüggő különbségek jelentőségére, mivel salátában a ‘Kobak’ fajta nagyobb klorofilltartalommal, biomasszával és magasabb N- és NO_3^- -koncentrációval, valamint markánsabb BIS-változásokkal (R_1 , R_4 , C_m) reagált az N-ellátásra, mint a ‘Május királya’ fajta. Míg uborkában korai N-hiány esetén az ES2217 F1 genotípus magasabb fotoszintetikus hatékonyságot (F_v/F_m , Y(II), ETR), a Nairobi F1 pedig nagyobb antioxidáns kapacitást, stabilabb membránállapotot és a Nyquist-diagramokon megjelenő szélesebb félkörívek, illetve magasabb kapacitív csúcs alapján magasabb membránkapacitást mutatott, amit az MSI magasabb értékei is alátámasztottak; a ROC-analízis tovább finomította a diagnosztikai értékelést, és azt mutatta, hogy ES2217 F1-ben az R_1 ellenállás és C_m (AUC = 0,91; pontosság = 0,87–0,89), valamint közepes teljesítménnyel az R_2 ellenállás, mérsékelt elkülönítéssel az R_4 és C_t , míg gyenge vagy nagyon gyenge diagnosztikai értékkel az α és különösen a β (AUC = 0,69, illetve 0,42) járulnak hozzá a N-ellátottsági szintek elkülönítéséhez. A Nairobi F1-ben pedig a C_m bizonyult a legerősebb prediktornak (AUC = 0,92; pontosság = 0,91; szenzitivitás = 1,00), ezt követte az R_2 ellenállás (AUC = 0,86), míg az R_1 ellenállás és C_t közepes (AUC = 0,83–0,85), az α és különösen az R_4 ellenállás gyenge, a β pedig mindkét genotípusban a leggyengébb (AUC = 0,41–0,42) paraméternek bizonyult. Mindez összességében arra utal, hogy a BIS szempontjából az R_1 , R_2 , R_4 és C_m alkotják a leginformatívabb paramétercsoportot, míg a β önálló diagnosztikai indikátorként korlátozottan alkalmazható. A genotípusonként eltérő ROC-profilok alapján a BIS-alapú N-diagnosztika fejlesztéséhez genotípus-specifikus kalibráció szükséges.

Eredményeim alapján megállapítható, hogy a négyelektródás, *in vivo* BIS-mérés a DBS-PSO illesztéssel különösen akkor alkalmazható megbízhatóan a levelek N-ellátottságával összefüggő biofizikai változásainak és a levélszövetek vízállapotának diagnosztikájára, ha az R_1 , R_4 és C_m paraméterek együttesen kerülnek értelmezésre, ahol az R_1 ellenállás az extracelluláris ionösszetétel változásaira, R_4 ellenállás a vakuólum iontartalmának változásaira, C_m pedig a membránintegritás és dielektromos állapot módosulásaira utalhat. A korai N-hiány felismerésére a C_m és R_1 (‘ES2217 F1’), illetve C_m és R_2 (‘Nairobi F1’) kombinációja kerül előtérbe, miközben a BIS elsősorban az alacsony és közepes N-

tartományban használható hatékonyan, mert optimális N-szinteken (N3-N4) a visszacsatolt NO_3^- -homeosztázis miatt csak csekély impedanciabeli különbségek jelentkeznek. Az eltérő N-formák (NO_3^- , NH_4NO_3 , gyapjúpellet) értelmezésénél figyelembe kell venni, hogy bár a NO_3^- -kezelés a legmagasabb levél N- és NO_3^- -tartalmat, az NH_4NO_3 a legnagyobb biomasszát eredményezte, a gyapjúpellet pedig tartósan magas R_1 - és R_4 -ellenállásértékei elhúzódó élettani válaszreakciót eredményeztek, még kedvező pigmenttartalom mellett is.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Összefoglalva megállapítható, hogy a négyelektródás, *in vivo* növénymérésre alkalmas bioimpedancia-spektroszkópia (BIS) a Double-Shell (DBS) sejtmodellel és a részecske-raj-optimalizáláson (PSO) alapuló paraméterkinyeréssel együtt alkalmas a növények N-ellátottságával és vízállapotával összefüggő biofizikai változások minimálisan invazív, sejtszintű vizsgálatára. A DBS-PSO megközelítés stabil és reprodukálható paraméterbecslést biztosított. A PSO a növényélettani kutatásokban gyakran használt ZFIT eljárásnál kisebb paraméterszórást eredményezett, ami közvetlenül növelte a biológiai értelmezések megbízhatóságát, valamint lehetővé tette, hogy a BIS-paraméterek statisztikai modellekben (pl. MANOVA, ROC-analízis, korrelációk) diagnosztikai változóként is konzekvensen szerepeljenek.

Eredményeim igazolták, hogy az egyes BIS-paraméterek eltérő és részben kiegészítő élettani információt hordoznak. A levél extracelluláris ellenállása (R_1) érzékenyen reagált az apoplastikus ionösszetétel változásaira, és a jelen kísérleti rendszerben szoros kapcsolatot mutatott az apoplastikus, illetve levél- NO_3^- -tartalommal. Az alacsony frekvenciatartományban az R_1 ellenállás különösen jól követte a N-ellátottsággal összefüggő iondinamikai változásokat. Ezzel párhuzamosan a vakuólumfolyadék ellenállása (R_4) szoros kapcsolatot mutatott a levelek NO_3^- -tartalmával, így a vakuólum iontartalmának és annak változásainak értelmezéséhez nyújthat információt. A sejtmembrán kapacitása (C_m) pedig a membránintegritás és a dielektromos állapot indikátoraként írható le, így a stresszhez köthető membránállapot-változások (beleértve a vízellátottság hatását is) érzékeny leírására alkalmas.

A N- és vízstressz bioimpedanciában mérhető hatásai részben átfednek, ami önmagában indokolja a többparaméteres és többváltozós kiértékelést. Ugyanakkor az eredmények arra is rámutatnak, hogy megfelelő paraméterkombinációk alkalmazásával a két stresszválasz bizonyos mértékű elkülönítése lehetséges. Ennek gyakorlati üzenete az, hogy a BIS-diagnosztikát nem egyetlen indikátorra, hanem minimum az $R_1 - R_4 - C_m$ paraméterek együttes értelmezésére célszerű felépíteni, mivel ezek kombinációja bizonyult a leginformatívabbnak.

A korai N-hiány elkülönítésében a legerősebb prediktorok genotípusfüggők voltak, ami azt támasztja alá, hogy a BIS-alapú N-diagnosztika fejlesztéséhez genotípus-specifikus kalibráció szükséges.

A BIS különösen az alacsony és közepes N-tartományban használható hatékonyan diagnosztikai célra, míg magasabb N-szinteken (N3-N4) a visszacsatolt NO_3^- -homeosztázis következtében kisebb bioimpedanciaalapú különbségek jelentkezhetnek. Ennek megfelelően a módszer gyakorlati beállítását (mintavételi stratégia, küszöbök, döntési szabályok) célszerű a korai hiányállapot felismerésére optimalizálni.

Eredményeim alapján a következő gyakorlati és módszertani javaslatokat fogalmaztam meg:

- 1) A levél N-ellátottságának diagnosztikai értelmezéséhez elsődlegesen az R_1 ellenállás, az R_4 ellenállás és a C_m kapacitás együttes alkalmazása javasolt. Az egyes BIS-paraméterek izolált értékelése helyett célszerű a paraméterek kombinációs mintázataira építeni, mivel ezek hordozzák a legnagyobb élettani információt.
- 2) Mivel a BIS-paraméterek értékei és diagnosztikai érzékenysége fajtaként és genotípusonként eltérő, a mérési protokoll, valamint a döntési küszöbértékek genotípus- és vizsgálati cél specifikus kalibrálása indokolt.
- 3) A paraméterbecslés során tapasztalt varianciacsökkenés és nagyobb interpretációs stabilitás alapján a DBS-modell paramétereinek kinyerésére a PSO-alapú illesztési eljárás alkalmazása javasolt, különösen olyan esetekben, amikor a cél élettani jelentésű BIS-paraméterekre épülő diagnosztika kialakítása.

Összességében a bemutatott eredmények arra utalnak, hogy a BIS megfelelő modellezéssel és kalibrációval ígéretes eszköz lehet a levél N-ellátottságával és vízállapotával összefüggő változások nem destruktív, sejtszintű vizsgálatára.

5.1 A módszer korlátai és a jövőbeli kutatási irányok

A bemutatott eredmények alapján a négyelektródás, *in vivo* bioimpedancia-spektroszkópia (BIS) mérőrendszer alkalmasnak bizonyult a növények N-ellátottságával és vízállapotával összefüggő biofizikai változások vizsgálatára. Ugyanakkor a módszer jelenlegi formájában több korláttal is rendelkezik, amelyeket az eredmények értelmezése és a gyakorlati alkalmazhatóság megítélése során figyelembe kell venni. A BIS-paraméterek alakulását ugyanis nem kizárólag a N-ellátottság, hanem a növény vízállapota, valamint a vizsgált faj és genotípus sajátosságai is befolyásolhatják, ami korlátozza az eredmények közvetlen általánosíthatóságát. Ez összhangban van a dolgozat korábbi megállapításaival is, amelyek szerint a vízállapot változásai zavaró tényezőként befolyásolhatják a BIS-paraméterek élettani értelmezését.

A módszer értelmező ereje nagymértékben függ a választott modell alkalmasságától, az illesztési eljárás stabilitásától, valamint a referencia növényélettani paraméterekkel való összevethetőségtől. Emellett a jelenlegi mérési elrendezés minimálisan invazívnak tekinthető, mivel az elektródák közvetlen fizikai kapcsolata a levélszövettel elkerülhetetlen.

A jövőbeli kutatások egyik fontos iránya ezért olyan mérési elrendezések fejlesztése lehet, amelyek a jelenlegi minimálisan invazív rendszernél kisebb mechanikai beavatkozással, hosszabb távon pedig lehetőség szerint teljesen nem invazív módon teszik lehetővé a növényi szövetek BIS-alapú vizsgálatát, miközben megőrzik a módszer nem destruktív jellegét.

További kutatási irányt jelent a módszer validálása szélesebb fajkörön és eltérő termesztési rendszerekben, különösen félkontrollált és szabadföldi körülmények között. Emellett szükséges a vízállapot és a N-ellátottság együttes hatásának pontosabb elkülönítése, valamint olyan faj- és genotípus-specifikus kalibrációs modellek kialakítása, amelyek növelhetik a BIS diagnosztikai alkalmazhatóságát.

A jövőbeli kutatások és fejlesztések egyik fontos iránya a BIS alkalmazhatóságának vizsgálata termő állományban, üzemi vagy félüzemi termesztési körülmények között. A jelen dolgozat eredményei elsősorban kontrollált környezetben igazolták a BIS diagnosztikai potenciálját, ezért a módszer gyakorlati hasznosításának következő lépése annak értékelése lehet, hogy az eltérő mikroklimatikus, talajtani és állományszerkezeti viszonyok között mennyiben őrizhető meg a paraméterek diagnosztikai érzékenysége. Emellett további fejlesztési lehetőséget jelenthet a módszer kiterjesztése más tápelemek, különösen a kálium- és magnéziumellátottság vizsgálatára is. Mivel ezek az ionok alapvető szerepet töltenek be a sejtek ozmotikus

szabályozásában, ioneqyensúlyában és membránfolyamataiban, feltételezhető, hogy változásaik a BIS-paraméterekben is kimutatható módon megjelennek. Ezáltal a BIS a jövőben nemcsak a N-állapot, hanem több tápelemhez kapcsolódó élettani változás gyors, *in vivo* és gyakorlati szempontból is hasznos monitorozására alkalmas módszerré fejlődhet.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Igazoltam, hogy a PSO algoritmus a növényélettani kutatásokban széles körben használt ZFIT algoritmushoz képest szignifikánsan kisebb szórást eredményez a Double Shell sejtmmodell -paraméterekre, ami közvetlenül növeli a biológiai interpretáció megbízhatóságát.
2. Elsőként igazoltam, hogy a vizsgált körülmények között az extracelluláris ellenállás (R_1) az apoplasztikus NO_3^- -ellátottság legérzékenyebb indikátora, ami szoros negatív korrelációt mutat a levél- és apoplasztikus NO_3^- -tartalommal, és alacsony frekvenciatartományban (1-4000 Hz) elkülöníti a N-hiányos és az optimálisan N-ellátott növényi levelek impedanciagörbéit.
3. Elsőként igazoltam, hogy a vakuólum ellenállás (R_4) - ideális egyéb tápanyagellátottság mellett-, a NO_3^- szint változtatása során a levélszövet NO_3^- tartalmával mutat szoros kapcsolatot: minden esetben szignifikánsan magasabb R_4 ellenállás növekedését figyeltem meg, amikor a növények NO_3^- koncentrációja alacsonyabb volt.
4. Elsőként igazoltam, hogy N-hiányos körülmények között a sejtmembrán kapacitása (C_m) szoros kvantitatív összefüggést mutat a membránstabilitási indexszel (MSI), ami arra utal, hogy az N-hiány a membrán töltéstároló képességének mérhető romlásával jár. A tonoplasztkapacitás (C_t) mérsékeltebb érzékenységet mutat, értékei részben követik a levél NO_3^- -tartalom változásait, de diagnosztikai teljesítménye a C_m -nél gyengébbnek bizonyult.
5. Kimutattam, hogy a vizsgált kísérleti rendszerben a vakuólum ellenállása (R_4) erős negatív összefüggést mutat a levél NO_3^- -tartalmával, és a vizsgált N-források (NO_3^- , NH_4NO_3 , valamint szerves N-t biztosító gypjúpellet) közötti különbségek jelzésében a legérzékenyebb bioimpedancia-paraméternek bizonyult. Ezzel szemben az extracelluláris ellenállás (R_1) és a sejtmembrán kapacitás (C_m) nemcsak az N-ellátottság változásaira, hanem a levélszövet vízállapotára is érzékenyen reagált.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A bioimpedancia-spektroszkópia (BIS) napjainkra a növényélettani kutatások ígéretes, gyorsan fejlődő eszközévé vált, amely lehetővé teszi a sejtszintű víz- és tápanyagállapot nem destruktív vizsgálatát. Ugyanakkor a BIS alkalmazása a N-hiány diagnosztikájára a nemzetközi szakirodalomban még korlátozott. Doktori kutatásom célja az volt, hogy feltárjam, hogyan használható a BIS technika a növényi N-ellátottság értékelésére különböző modellnövényeken, valamint hogy a Double Shell sejtmodellel alapuló paraméterek valóban alkalmasak-e a stresszfolyamatok diagnosztikájára.

Munkám során egy négyelektródás, *in vivo* levél-BIS mérőrendszert alkalmaztam, amelyet a részecskeraj-optimalizáción (PSO) alapuló illesztéssel kombináltam. Igazoltam, hogy a PSO-algoritmus a növényélettani kutatásokban elterjedt ZFIT eljáráshoz képest jelentősen kisebb szórást eredményez a Double Shell modell paramétereire, ezáltal növeli a bioelektromos jelenségek biológiai interpretációjának pontosságát.

Kísérleteim fejes saláta-, uborka- és paprika modellnövényeken igazolták, hogy az extracelluláris ellenállás (R_1) az apoplasztikus NO_3^- koncentráció legérzékenyebb indikátora: erős negatív korrelációt mutat a levél- és apoplaszt NO_3^- -tartalommal, és alacsony frekvenciatartományban (1-4000 Hz) megbízhatóan elkülöníti az N-hiányos és jól N-ellátott növényeket. Megállapítottam továbbá, hogy a vakuólum ellenállás (R_4) a levél NO_3^- -tartalmával mutatja a legerősebb kapcsolatot.

A sejtmembrán-kapacitás (C_m) szintén érzékenyen reagált az N-ellátottság változására: alacsony N-szinteken következetesen csökkent, és szoros pozitív kapcsolatot mutatott a membránstabilitási indexszel (MSI), ami a membrán töltéstároló képességének gyengülését jelzi. A tonoplaszt-kapacitás (C_t) mérsékeltebb érzékenységet mutatott, míg a diszperziós paraméterek (α , β) diagnosztikai értéke minden rendszerben korlátozott volt.

Vizsgálataim rávilágítottak arra, hogy a N-ellátottság és a növények víztartalma együttesen, egymást átfedve alakítják a levél bioimpedancia-paramétereit. A vakuólum ellenállás (R_4) bizonyult a legérzékenyebb N-ellátottsági jelzőnek, míg az extracelluláris ellenállás (R_1) és a sejtmembrán-kapacitás (C_m) egyszerre tükrözték a N- és vízstressz hatását. Kimutattam továbbá, hogy ha a levél víztartalma térben nem homogén, vagy a N-hiány vízhiánnyal együtt jelentkezik, a BIS-paraméterek a két stresszhatás elkülönítésére csak korlátozottan alkalmasak. A pontos diagnózishoz ezért elengedhetetlen a levél NO_3^- -tartalom és a pigmentparaméterek együttes értékelése.

Összegzésként megállapítható, hogy az extracelluláris ellenállás (R_1), a vakuólum ellenállás (R_4) és a sejtmembrán kapacitás (C_m) olyan kulcsparaméterek, amelyek a N- és vízstressz egymást átfedő hatásai ellenére is értékes információt hordoznak. Eredményeim hozzájárulnak a BIS diagnosztikai alkalmazhatóságának bővítéséhez, és új, minimálisan invazív megközelítést kínálnak a növényi N-hasznosítás és víztartalom összehangolt értékelésére.

8. SUMMARY

Bioimpedance spectroscopy (BIS) has recently emerged as a promising and rapidly developing tool in plant physiological research, minimally invasive *in vivo* investigation of cellular water and nutrient status. However, its application for diagnosing nitrogen (N) deficiency remains limited in the international literature. The aim of my doctoral research was to explore how BIS can be utilized to assess plant N status in different model species, and to evaluate whether parameters estimated using the Double Shell cell model are suitable for diagnosing stress-related processes.

In this work, an *in vivo* leaf BIS measurement system with a four-electrode configuration was applied, combined with particle swarm optimization (PSO)-based model fitting. I demonstrated that the PSO algorithm produces significantly lower variance in the estimated parameters of the Double Shell model compared to the widely used ZFIT algorithm in plant physiological studies, thereby improving the accuracy of the biological interpretation of bioelectrical phenomena.

Experiments conducted on lettuce, cucumber, and pepper model plants revealed that extracellular fluid resistance (R_1) is the most sensitive indicator of apoplastic NO_3^- concentration. It showed a strong negative correlation with both leaf and apoplastic NO_3^- content and reliably distinguished between N-deficient and well-supplied plants within the low-frequency range (1-4000 Hz). Furthermore, vacuole fluid resistance (R_4) exhibited the strongest relationship with leaf NO_3^- content.

Cell membrane capacitance (C_m) also responded sensitively to changes in N supply: it consistently decreased under low N conditions and showed a strong positive correlation with the membrane stability index (MSI), indicating a reduction in membrane charge storage capacity. Tonoplast capacitance (C_t) displayed moderate sensitivity, while dispersion parameters (α , β) showed limited diagnostic value across all systems.

My results highlight that plant N status and water content jointly, and in an overlapping manner, influence leaf bioimpedance parameters. Vacuole fluid resistance (R_4) proved to be the most sensitive indicator of N status, whereas extracellular fluid resistance (R_1) and cell membrane capacitance (C_m) reflected both N and water stress effects. I further demonstrated that when leaf water content is spatially heterogeneous, or when N deficiency co-occurs with water deficit, BIS parameters have limited capability to distinguish between these stress factors.

Therefore, accurate diagnosis requires the combined evaluation of leaf NO_3^- content and pigment-related parameters.

In conclusion, extracellular resistance (R_1), vacuole fluid resistance (R_4), and cell membrane capacitance (C_m) are key parameters that retain significant diagnostic value despite the overlapping effects of N and water stress. These findings contribute to expanding the diagnostic applicability of BIS and provide a novel, minimally invasive approach for the integrated assessment of plant nitrogen use and water status.

9. MELLÉKLETEK

9.1 M1 (Irodalomjegyzék)

- AboBakr, A., Said, L.A., Madian, A.H., Elwakil, A.S., Radwan, A.G., 2017. Experimental comparison of integer/fractional-order electrical models of plant. *AEU - Int. J. Electron. Commun.* 80, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aeue.2017.06.010>
- Altana, A., Hamed, S., Lugli, P., Petti, L., Ibba, P., 2024. Monitoring Iron Stress in Tomato Plants Through Bioimpedance and Machine-Learning-Enhanced Classification Based on Circuit Component Analysis. *IEEE Trans. AgriFood Electron.* 2, 190–197. <https://doi.org/10.1109/tafe.2024.3411269>
- Ando, Y., Mizutani, K., Wakatsuki, N., 2014. Electrical impedance analysis of potato tissues during drying. *J. Food Eng.* 121, 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.008>
- Arnon, D.I., 1949. Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. *Plant Physiol.* 24, 1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Asad, M.A.U., Guan, X., Zhou, L., Qian, Z., Yan, Z., Cheng, F., 2023. Involvement of plant signaling network and cell metabolic homeostasis in nitrogen deficiency-induced early leaf senescence. *Plant Sci.* 336. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111855>
- Astashev, M.E., Konchekov, E.M., Kolik, L. V., Gudkov, S. V., 2022. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment. *Sensors* 22. <https://doi.org/10.3390/s22218310>
- Azzarello, E., Masi, E., Mancuso, S., 2012. Electrochemical impedance spectroscopy. *Plant Electrophysiol. Methods Cell Electrophysiol.* 205–223. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29119-7_9
- Azzarello, E., Mugnai, S., Pandolfi, C., Masi, E., Mancuso, S., 2006. Stress Assessment in Plants by Impedance Spectroscopy. *Florica. Ornament. Plant Biotechnol.* Vol. III 140–148.
- Baker, N.R., 2008. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 89–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>
- Bar-On, L., Shacham-Diamand, Y., 2021a. On the Interpretation of Four Point Impedance Spectroscopy of Plant Dehydration Monitoring. *IEEE J. Emerg. Sel. Top. Circuits Syst.* 11, 482–492. <https://doi.org/10.1109/JETCAS.2021.3098984>

- Barbosa, J.A., Freitas, V.M.S., Vidotto, L.H.B., Schleder, G.R., De Oliveira, R.A.G., Da Rocha, J.F., Kubota, L.T., Vieira, L.C.S., Tolentino, H.C.N., Neckel, I.T., Gobbi, A.L., Santhiago, M., Lima, R.S., 2022. Biocompatible Wearable Electrodes on Leaves toward the On-Site Monitoring of Water Loss from Plants. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 14, 22989–23001. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c02943>
- Bart, M., Stigter, E.C.A., Stapert, H.R., De Jong, G.J., Van Bennekom, W.P., 2005. On the response of a label-free interferon- γ immunosensor utilizing electrochemical impedance spectroscopy. *Biosens. Bioelectron.* 21, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2004.10.009>
- Basak, R., Wahid, K., Dinh, A., 2020a. Determination of leaf nitrogen concentrations using electrical impedance spectroscopy in multiple crops. *Remote Sens.* 12. <https://doi.org/10.3390/rs12030566>
- Basak, R., Wahid, K.A., Dinh, A., Soolanayakanahally, R., Fotouhi, R., Mehr, A.S., 2020b. Rapid and efficient determination of relative water contents of crop leaves using electrical impedance spectroscopy in vegetative growth stage. *Remote Sens.* 12. <https://doi.org/10.3390/rs12111753>
- Bazihizina, N., Redwan, M., Taiti, C., Giordano, C., Monetti, E., Masi, E., Azzarello, E., Mancuso, S., 2015. Root based responses account for *Psidium guajava* survival at high nickel concentration. *J. Plant Physiol.* 174, 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.10.011>
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Berger, K., Verrelst, J., Féret, J.B., Wang, Z., Woche, M., Strathmann, M., Danner, M., Mauser, W., Hank, T., 2020. Crop nitrogen monitoring: Recent progress and principal developments in the context of imaging spectroscopy missions. *Remote Sens. Environ.* 242. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2020.111758>
- Boros, I.F., Sipos, L., Kappel, N., Csambalik, L., Fodor, M., 2020. Quantification of nitrate content with FT-NIR technique in lettuce (*Lactuca sativa* L.) variety types: a statistical approach. *J. Food Sci. Technol.* 57, 4084–4091. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04442-1>

- Britto, D.T., Kronzucker, H.J., 2002. NH_4^+ toxicity in higher plants: A critical review. *J. Plant Physiol.* 159, 567–584. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>
- Burns, I.G., Durnford, J., Lynn, J., McClement, S., Hand, P., Pink, D., 2012. The influence of genetic variation and nitrogen source on nitrate accumulation and iso-osmotic regulation by lettuce. *Plant Soil* 352, 321–339. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0999-0>
- Cabrera-Bosquet, L., Albrizio, R., Araus, J.L., Nogués, S., 2009. Photosynthetic capacity of field-grown durum wheat under different N availabilities: A comparative study from leaf to canopy. *Environ. Exp. Bot.* 67, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.004>
- Chang, S.X., Robison, D.J., 2003. Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. *For. Ecol. Manage.* 181, 331–338. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(03\)00004-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00004-5)
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 103, 551–560. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>
- Chen, Z., Xu, J., Wang, F., Wang, L., Xu, Z., 2019. Morpho-physiological and proteomic responses to water stress in two contrasting tobacco varieties. *Sci. Rep.* 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54995-1>
- Chowdhury, R.I., Basak, R., Wahid, K.A., Nugent, K., Baulch, H., 2021. A Rapid Approach to Measure Extracted Chlorophyll-a from Lettuce Leaves using Electrical Impedance Spectroscopy. *Water. Air. Soil Pollut.* 232. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05036-z>
- Cole, K.S., 1932. Electric phase angle of cell membranes. *J. Gen. Physiol.* 15, 641–649. <https://doi.org/10.1085/jgp.15.6.641>
- Cookson, S.J., Williams, L.E., Miller, A.J., 2005. Light-dark changes in cytosolic nitrate pools depend on nitrate reductase activity in Arabidopsis leaf cells. *Plant Physiol.* 138, 1097–1105. <https://doi.org/10.1104/pp.105.062349>
- Crawford, N.M., Glass, A.D.M., 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends Plant Sci.* 3, 389–395. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01311-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01311-9)
- Czékus, Z., Milodanovic, D., Koprivanacz, P., Bela, K., López-Climent, M.F., Gómez-Cadenas, A., Poór, P., 2023. The role of salicylic acid on glutathione metabolism under

- endoplasmic reticulum stress in tomato. *Plant Physiol. Biochem.* 205. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108192>
- Delfine, S., Tognetti, R., Loreto, F., Alvino, A., 2002. Physiological and growth responses to water stress in field-grown bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 77, 697–704. <https://doi.org/10.1080/14620316.2002.11511559>
- Dwivedi, S.K., Arora, A., Singh, V.P., Singh, G.P., 2018. Induction of water deficit tolerance in wheat due to exogenous application of plant growth regulators: membrane stability, water relations and photosynthesis. *Photosynthetica* 56, 478–486. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0695-2>
- Elzhov, T. V, Mullen, K.M., Spiess, A.-N., Bolker, B., Mullen, M.K.M., Suggests, M., 2016. Package ‘minpack. lm.’ Title R Interface Levenberg-Marquardt Nonlinear Least-Sq. Algorithm Found MINPACK Plus Support Bounds.
- Esteban, R., Ariz, I., Cruz, C., Moran, J.F., 2016. Review: Mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance. *Plant Sci.* 248, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.04.008>
- Felföldi, J., László, P., Barabácssy, S., Farkas, J., 1993. Dielectric method for detection of irradiation treatment of potatoes. *Radiat. Phys. Chem.* 41, 471–480. [https://doi.org/10.1016/0969-806X\(93\)90007-H](https://doi.org/10.1016/0969-806X(93)90007-H)
- Fernández-Escobar, R., Beltrán, G., Sánchez-Zamora, M.A., García-Novelo, J., Aguilera, M.P., Uceda, M., 2006. Olive oil quality decreases with nitrogen over-fertilization. *HortScience* 41, 215–219. <https://doi.org/10.21273/hortsci.41.1.215>
- Ficzek, G., Mehmeti, S., Bujdosó, G., Magyar, Á., Simon, G., 2025. Assessing the Post-Brief-Storage Fruit Quality and Sensory Characteristics of Old, Local Apple Cultivars from the Carpathian Basin. *Plants* 14. <https://doi.org/10.3390/plants14132005>
- Foyer, C.H., Zhang, H., 2010. Nitrogen metabolism in plants in the post-genomic era. *Nitrogen Metab. Plants Post-genomic Era* 42, 1–366. <https://doi.org/10.1002/9781444328608>
- Foyer, C.H.N.G., 2002. Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism. *Photosynth. nitrogen Assim. Assoc. carbon Respir. Metab., Advances in Photosynthesis and Respiration Volume 12*, i. <https://doi.org/10.1007/0-306-48138-3>

- Gao, Y., Shao, G., Cui, J., Lu, J., Tian, L., Song, E., Zeng, Z., 2023. Effects of Drought Hardening and Saline Water Irrigation on the Growth, Yield, and Quality of Tomato. *Agronomy* 13. <https://doi.org/10.3390/agronomy13092351>
- Garlando, U., Bar-On, L., Ros, P.M., Sanginario, A., Peradotto, S., Shacham-Diamand, Y., Avni, A., Martina, M., Demarchi, D., 2020. Towards optimal green plant irrigation: Watering and body electrical impedance. *Proc. - IEEE Int. Symp. Circuits Syst.* 2020-Octob. <https://doi.org/10.1109/iscas45731.2020.9181290>
- Garlando, U., Calvo, S., Barezzi, M., Sanginario, A., Motto Ros, P., Demarchi, D., 2022. Ask the plants directly: Understanding plant needs using electrical impedance measurements. *Comput. Electron. Agric.* 193, 106707. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.106707>
- Gaude, N., Bréhélin, C., Tischendorf, G., Kessler, F., Dörmann, P., 2007. Nitrogen deficiency in *Arabidopsis* affects galactolipid composition and gene expression and results in accumulation of fatty acid phytyl esters. *Plant J.* 49, 729–739. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02992.x>
- Gent, M.P.N., 2012. Composition of hydroponic lettuce: Effect of time of day, plant size, and season. *J. Sci. Food Agric.* 92, 542–550. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4604>
- Gholami-Boroujeny, S., Bolic, M., 2016. Extraction of Cole parameters from the electrical bioimpedance spectrum using stochastic optimization algorithms. *Med. Biol. Eng. Comput.* 54, 643–651. <https://doi.org/10.1007/s11517-015-1355-y>
- Gholizadeh, A., Saberioon, M., Borůvka, L., Wayayok, A., Mohd Soom, M.A., 2017. Leaf chlorophyll and nitrogen dynamics and their relationship to lowland rice yield for site-specific paddy management. *Inf. Process. Agric.* 4, 259–268. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.08.002>
- Ghoneim, M.S., Gadallah, S.I., Said, L.A., Eltawil, A.M., Radwan, A.G., Madian, A.H., 2022. Plant stem tissue modeling and parameter identification using metaheuristic optimization algorithms. *Sci. Rep.* 12, 3992. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06737-z>
- Gitelson, A.A., Kaufman, Y.J., Stark, R., Rundquist, D., 2002. Novel algorithms for remote estimation of vegetation fraction. *Remote Sens. Environ.* 80, 76–87. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(01\)00289-9](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(01)00289-9)
- Greenham, C.G., Randall, P.J., Ward, M.M., 1972. Impedance parameters in relation to

- phosphorus and calcium deficiencies in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *J. Exp. Bot.* 23, 197–209. <https://doi.org/10.1093/jxb/23.1.197>
- Grimnes, S., Martinsen, Ø.G., 2005. Cole electrical impedance model - A critique and an alternative. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 52, 132–135. <https://doi.org/10.1109/TBME.2004.836499>
- Guidi, L., Calatayud, A., 2014. Non-invasive tools to estimate stress-induced changes in photosynthetic performance in plants inhabiting Mediterranean areas. *Environ. Exp. Bot.* 103, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.12.007>
- Guo, Q., Liu, L., Rupasinghe, T.W.T., Roessner, U., Barkla, B.J., 2022. Salt stress alters membrane lipid content and lipid biosynthesis pathways in the plasma membrane and tonoplast. *Plant Physiol.* 189, 805–826. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac123>
- Gyorfi, N., Gal, A.R., Fincsur, A., Kalmar-Nagy, K., Mintal, K., Hormay, E., Miseta, A., Tornoczky, T., Nemeth, A.K., Bogner, P., Kiss, T., Helyes, Z., Sari, Z., Klincsik, M., Tadic, V., Lenard, L., Vereczkei, A., Karadi, Z., Vizvari, Z., Toth, A., 2023. Novel Noninvasive Paraclinical Study Method for Investigation of Liver Diseases. *Biomedicines* 11, 2449. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092449>
- Hachiya, T., Sakakibara, H., 2017. Interactions between nitrate and ammonium in their uptake, allocation, assimilation, and signaling in plants. *J. Exp. Bot.* 68, 2501–2512. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw449>
- Hamed, B. K., Zorrig, W., Hamzaoui, A.H., 2016. Electrical impedance spectroscopy: A tool to investigate the responses of one halophyte to different growth and stress conditions. *Comput. Electron. Agric.* 123, 376–383. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.03.006>
- Hamed, S., Ibba, P., Altana, A., Lugli, P., Petti, L., 2023. Towards Tomato Plant Iron Stress Monitoring Through Bioimpedance and Circuit Analysis. 2023 IEEE Conf. AgriFood Electron. CAFE 2023 - Proc. 20–24. <https://doi.org/10.1109/CAFE58535.2023.10292001>
- Hayden, R.I., Moyse, C.A., Calder, F.W., Crawford, D.P., Fensom, D.S., 1969. Electrical impedance studies on potato and alfalfa tissue. *J. Exp. Bot.* 20, 177–200. <https://doi.org/10.1093/jxb/20.2.177>
- Hebbali, A., Hebbali, M.A., 2017. Package ‘olsrr.’ Version 0.5 3.
- Hesari, N., Szegő, A., Mirmazloum, I., Pónya, Z., Kiss-Bába, E., Kolozs, H., Gyöngyik, M.,

- Vasas, D., Papp, I., 2023. High-Nitrate-Supply-Induced Transcriptional Upregulation of Ascorbic Acid Biosynthetic and Recycling Pathways in Cucumber. *Plants* 12, 1292. <https://doi.org/10.3390/plants12061292>
- Hietala, T., Hiekkala, P., Rosenqvist, H., Laakso, S., Tahvanainen, L., Repo, T., 1998. Fatty acid and alkane changes in willow during frost-hardening. *Phytochemistry* 47, 1501–1507. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)01083-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)01083-2)
- Ho, C.H., Lin, S.H., Hu, H.C., Tsay, Y.F., 2009. CHL1 Functions as a Nitrate Sensor in Plants. *Cell* 138, 1184–1194. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.07.004>
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil (1950 edition) | Open Library. Calif. Agric. Exp. Stn. 347.
- Homolová, L., Malenovský, Z., Clevers, J.G.P.W., García-Santos, G., Schaepman, M.E., 2013. Review of optical-based remote sensing for plant trait mapping. *Ecol. Complex.* 15, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2013.06.003>
- Hossen, M.A., Diwakar, P.K., Ragi, S., 2021. Total nitrogen estimation in agricultural soils via aerial multispectral imaging and LIBS. *Sci. Rep.* 11, 12693. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90624-6>
- Hu, Y., Fernández, V., Ma, L., 2014. Nitrate transporters in leaves and their potential roles in foliar uptake of nitrogen dioxide. *Front. Plant Sci.* 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00360>
- Huang, W., Yang, S., Pu, R., Yang, S., 2014. Estimation of nitrogen vertical distribution by Bi-Directional canopy reflectance in winter wheat, in: *Sensors (Switzerland)*. IOP Publishing, pp. 20347–20359. <https://doi.org/10.3390/s141120347>
- Jamaludin, D., Abd Aziz, S., Ahmad, D., Jaafar, H.Z.E., 2015. Impedance analysis of Labisia pumila plant water status. *Inf. Process. Agric.* 2, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2015.07.004>
- Ji-Yong, S., Xiao-Bo, Z., Jie-Wen, Z., Kai-Liang, W., Zheng-Wei, C., Xiao-Wei, H., De-Tao, Z., Holmes, M., 2012. Nondestructive diagnostics of nitrogen deficiency by cucumber leaf chlorophyll distribution map based on near infrared hyperspectral imaging. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 138, 190–197. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.02.024>
- Jiang, J., Wang, C., Wang, H., Fu, Z., Cao, Q., Tian, Y., Zhu, Y., Cao, W., Liu, X., 2021.

- Evaluation of three portable optical sensors for non-destructive diagnosis of nitrogen status in winter wheat. *Sensors* 21. <https://doi.org/10.3390/s21165579>
- Jinyang, L., Meiqing, L., Hanping, M., Wenjing, Z., 2016. Diagnosis of potassium nutrition level in *Solanum lycopersicum* based on electrical impedance. *Biosyst. Eng.* 147, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.04.005>
- Jócsák, I., Droppa, M., Horváth, G., Bóka, K., Vozáry, E., 2010. Cadmium- and flood-induced anoxia stress in pea roots measured by electrical impedance. *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* 65, 95–102. <https://doi.org/10.1515/znc-2010-1-216>
- Jócsák, I., Végvári, G., Vozáry, E., 2019. Electrical impedance measurement on plants: a review with some insights to other fields. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 31, 359–375. <https://doi.org/10.1007/s40626-019-00152-y>
- John, A., Krämer, M., Lehmann, M., Kunz, H.H., Aarabi, F., Alseekh, S., Fernie, A., Sommer, F., Schroda, M., Zimmer, D., Mühlhaus, T., Peisker, H., Gutbrod, K., Dörmann, P., Neunzig, J., Philippar, K., Neuhaus, H.E., 2024. Degradation of FATTY ACID EXPORT PROTEIN1 by RHOMBOID-LIKE PROTEASE11 contributes to cold tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 36, 1937–1962. <https://doi.org/10.1093/plcell/koae011>
- Kabalan, S., Kovács, F., Papdi, E., Tóth, E., Juhos, K., Biró, B., 2024. Residues of Symbiont Cover Crops Improving Corn Growth and Soil-Dependent Health Parameters. *Agric.* 14. <https://doi.org/10.3390/agriculture14091601>
- Kalaji, H.M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I.A., Cetner, M.D., Łukasik, I., Goltsev, V., Ladle, R.J., Dabrowski, P., Ahmad, P., 2014. The Use of Chlorophyll Fluorescence Kinetics Analysis to Study the Performance of Photosynthetic Machinery in Plants. *Emerg. Technol. Manag. Crop Stress Toler.* 2, 347–384. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800875-1.00015-6>
- Karaca, C., Thompson, R.B., Peña-Fleitas, M.T., Gallardo, M., Padilla, F.M., 2023. Evaluation of Absolute Measurements and Normalized Indices of Proximal Optical Sensors as Estimators of Yield in Muskmelon and Sweet Pepper. *Remote Sens.* 15. <https://doi.org/10.3390/rs15082174>
- Karim, E., Beáta, G., Zsuzsanna, P., 2025. Essential oils under stress: How drought and salinity shape the physiological and biochemical profile of *Thymus ×citriodorus*. *Ind. Crops Prod.*

- 233, 121368. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121368>
- Kassambara, A., Kassambara, M.A., 2019. Package ‘ggcorrplot.’ R Packag. version 0.1 3.
- Kaul, M., Hill, R.L., Walthall, C., 2005. Artificial neural networks for corn and soybean yield prediction. *Agric. Syst.* 85, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2004.07.009>
- Khanna-Chopra, R., Selote, D.S., 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environ. Exp. Bot.* 60, 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.11.004>
- Koklu, A., Sabuncu, A.C., Beskok, A., 2016. Rough Gold Electrodes for Decreasing Impedance at the Electrolyte/Electrode Interface. *Electrochim. Acta* 205, 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.04.048>
- Kolde, R., package, M.K.-R., 2015, undefined, 2022. Package “pheatmap.” cran.ms.unimelb.edu.au.
- Kovács, F., Juhos, K., Vizvári, Z., Odry, P., Gyalai, I.M., Sarcevic, P., Odry, Á., 2025a. Bioimpedance Analysis of Cucumber Plants Exposed to Different Nitrogen Doses Under Greenhouse Conditions. *Sensors* 25. <https://doi.org/10.3390/s25082486>
- Kovács, F., Papdi, E., Gyalai, I., Biró, B., Juhos, K., 2025b. Nitrogen supplying capability of wool pellets as an alternative fertilizer depending on soil biological activity. *Biol. Futur.* 76, 419–435. <https://doi.org/10.1007/s42977-025-00266-2>
- Kovács, F., Papdi, E., Veres, A., Mohay, P., Szegő, A., Juhos, K., 2024. More efficient nitrogen utilization through wool pellet and soil inoculation. *Agrosystems, Geosci. Environ.* 7. <https://doi.org/10.1002/agg2.20534>
- Kovács, F., Sarcevic, P., Odry, Á., Biró, B., Gyalai, I., Papdi, E., Juhos, K., 2025c. Predicting growth parameters of biofertilizer inoculated pepper, using root capacitance assessments and artificial neural networks in two soils. *Biol. Futur.* <https://doi.org/10.1007/s42977-025-00260-8>
- Lagarias, J.C., Reeds, J.A., Wright, M.H., Wright, P.E., 1998. Convergence properties of the Nelder-Mead simplex method in low dimensions. *SIAM J. Optim.* 9, 112–147. <https://doi.org/10.1137/S1052623496303470>

- Lal, S.K., Mehta, S., Raju, D., Achary, V.M.M., Venkatapuram, A.K., Yadav, S.K., Parmar, H., Pandey, R., Panditi, V., Sheri, V., Singh, A.K., Chinnusamy, V., Reddy, M.K., 2023. Concurrent Overexpression of Rice GS1;1 and GS2 Genes to Enhance the Nitrogen Use Efficiency (NUE) in Transgenic Rice. *J. Plant Growth Regul.* 42, 6699–6720. <https://doi.org/10.1007/s00344-023-10988-z>
- Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2006. Nitrogen use efficiency. 1. Uptake of nitrogen from the soil. *Ann. Appl. Biol.* 149, 243–247. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2006.00101.x>
- Lea, P.J., Mifflin, B.J., 2010. Nitrogen Assimilation and its Relevance to Crop Improvement. *Nitrogen Metab. Plants Post-genomic Era* 42, 1–40. <https://doi.org/10.1002/9781444328608.ch1>
- Levine, T.R., Hullett, C.R., 2002. Eta Squared, Partial Eta Squared, and Misreporting of Effect Size in Communication Research. *Hum. Commun. Res.* 28, 612–625. <https://doi.org/10.1093/hcr/28.4.612>
- Li, J., 2021. The Exploration of the Approach to Data Preparation for Chinese Text Analysis Based on R Language. *OALib* 08, 1–8. <https://doi.org/10.4236/oalib.1107821>
- Li, J. zhi, Li, B., Guan, Q., Gao, J. ming, 2022. Signal molecules controlling nitrate uptake by roots [WWW Document]. *J. Plant Interact.* <https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2037763>
- Li, M.Q., Li, J.Y., Wei, X.H., Zhu, W.J., 2017. Early diagnosis and monitoring of nitrogen nutrition stress in tomato leaves using electrical impedance spectroscopy. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* 10, 194–205. <https://doi.org/10.3965/j.ijabe.20171003.3188>
- Li, S., Liu, X., Yin, L., Wang, S., Deng, X., 2024. Alteration in lipid metabolism is involved in nitrogen deficiency response in wheat seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 214. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108883>
- Li, S.X., Wang, Z.H., Stewart, B.A., 2013a. Responses of Crop Plants to Ammonium and Nitrate N. *Adv. Agron.* 118, 205–397. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405942-9.00005-0>
- Liang, L., Di, L., Huang, T., Wang, J., Lin, L., Wang, L., Yang, M., 2018. Estimation of leaf nitrogen content in wheat using new hyperspectral indices and a random forest regression algorithm. *Remote Sens.* 10. <https://doi.org/10.3390/rs10121940>

- Liu, X., Wang, S., Deng, X., Zhang, Z., Yin, L., 2020. Comprehensive evaluation of physiological traits under nitrogen stress and participation of linolenic acid in nitrogen-deficiency response in wheat seedlings. *BMC Plant Biol.* 20, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02717-5>
- Liu, Y., Li, D.M., Qian, J., Di, B., Zhang, G., Ren, Z.H., 2021. Electrical impedance spectroscopy (EIS) in plant roots research: a review. *Plant Methods* 17, 1–25. <https://doi.org/10.1186/s13007-021-00817-3>
- López-Villanueva, J.A., Rodríguez Bolívar, S., 2022. Constant Phase Element in the Time Domain: The Problem of Initialization. *Energies* 15. <https://doi.org/10.3390/en15030792>
- Losacco, D., Campanale, C., Tumolo, M., Ancona, V., Massarelli, C., Uricchio, V.F., 2022. Evaluating the Influence of Nitrogen Fertilizers and Biochar on *Brassica oleracea* L. var. botrytis by the Use of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Sustain.* 14. <https://doi.org/10.3390/su141911985>
- Lu, C., Zhang, J., Zhang, Q., Li, L., Kuang, T., 2001. Modification of photosystem II photochemistry in nitrogen deficient maize and wheat plants. *J. Plant Physiol.* 158, 1423–1430. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00501>
- Luo, J., Ma, R., Feng, H., Li, X., 2016. Estimating the total nitrogen concentration of reed canopy with hyperspectral measurements considering a non-uniform vertical nitrogen distribution. *Remote Sens.* 8. <https://doi.org/10.3390/rs8100789>
- Mackinney, G., 1941. Absorption of Light By Chlorophyll Solutions. *J. Biol. Chem.* 140, 315–322. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)51320-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)51320-x)
- Manzoni, S., Porporato, A., 2009. Soil carbon and nitrogen mineralization: Theory and models across scales. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1355–1379. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.02.031>
- Mardani, S., Tabatabaei, S.H., Pessarakli, M., Zareabyaneh, H., 2017. Physiological responses of pepper plant (*Capsicum annuum* L.) to drought stress. *J. Plant Nutr.* 40, 1453–1464. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1269342>
- Martin, D., Reynolds, J., Daniele, M., Lobaton, E., Bozkurt, A., 2021. Towards Continuous Plant Bioimpedance Fitting and Parameter Estimation. *Proc. IEEE Sensors 2021-Octob.* <https://doi.org/10.1109/SENSORS47087.2021.9639492>

- Masclaux-Daubresse, C., Daniel-Vedele, F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gaufichon, L., Suzuki, A., 2010. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture. *Ann. Bot.* 105, 1141–1157. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq028>
- Meiqing, L., Jinyang, L., Hanping, M., Yanyou, W., 2016. Diagnosis and detection of phosphorus nutrition level for *Solanum lycopersicum* based on electrical impedance spectroscopy. *Biosyst. Eng.* 143, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.01.005>
- Mirhosseini, A., Hassanpour Asil, M., Olfati, J.A., Farhangi, M.B., 2024. Genotypic variation in nitrogen use efficiency trait in 35 cucumber inbred lines. *Acta Physiol. Plant.* 46. <https://doi.org/10.1007/s11738-023-03642-4>
- Monteiro, M.I.C., Ferreira, F.N., De Oliveira, N.M.M., Ávila, A.K., 2003. Simplified version of the sodium salicylate method for analysis of nitrate in drinking waters. *Anal. Chim. Acta* 477, 125–129. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)01395-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)01395-8)
- Morales de Los Ríos, L., Pham, T.D., Perez, T., Ben Amar, M., Corratgé-Faillie, C., Barbier, F., Lacombe, B., 2025. Functional characterization of NRT1/PTR FAMILY transporters: looking for a needle in a haystack. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/nph.70730>
- Morales, I., González-Landaeta, R., Simini, F., 2021. Bioimpedance plethysmography with capacitive electrodes and sole force sensors: Comparative trial. *J. Phys. Conf. Ser.* 2008. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2008/1/012018>
- Mu, X., Chen, Y., 2021. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. *Plant Physiol. Biochem.* 158, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.019>
- Muñoz-Huerta, R.F., Ortiz-Melendez, A. de J., Guevara-Gonzalez, R.G., Torres-Pacheco, I., Herrera-Ruiz, G., Contreras-Medina, L.M., Prado-Olivarez, J., Ocampo-Velazquez, R. V., 2014. An analysis of electrical impedance measurements applied for plant N status estimation in lettuce (*Lactuca sativa*). *Sensors (Switzerland)* 14, 11492–11503. <https://doi.org/10.3390/s140711492>
- Muratore, C., Espen, L., Prinsi, B., 2021. Nitrogen uptake in plants: The plasma membrane root transport systems from a physiological and proteomic perspective. *Plants* 10. <https://doi.org/10.3390/plants10040681>

- Narasimhan, R., Wang, G., Li, M., Roth, M., Welti, R., Wang, X., 2013. Differential changes in galactolipid and phospholipid species in soybean leaves and roots under nitrogen deficiency and after nodulation. *Phytochemistry* 96, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.09.026>
- Nelson, D.W., Sommers, L.E., 1980. Total Nitrogen Analysis of Soil and Plant Tissues. *J. AOAC Int.* 63, 770–778. <https://doi.org/10.1093/jaoac/63.4.770>
- Nguyen, T.T., Slaughter, D.C., Max, N., Maloof, J.N., Sinha, N., 2015. Structured light-based 3D reconstruction system for plants. *Sensors (Switzerland)* 15, 18587–18612. <https://doi.org/10.3390/s150818587>
- Nicolai, J., Aires, E.S., Gilvan, F., Ferreira, B., Júnior, F., Cristina, I., Marques, S., Ferrari Putti, F., Ono, E.O., Rodrigues, T.M., 2023. Leaves from two Solanaceae species with different leaf morphological traits respond differently to imidacloprid foliar spray*.
- Nikolic, M., Cesco, S., Monte, R., Tomasi, N., Gottardi, S., Zamboni, A., Pinton, R., Varanini, Z., 2012. Nitrate transport in cucumber leaves is an inducible process involving an increase in plasma membrane H⁺-ATPase activity and abundance. *BMC Plant Biol.* 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-66>
- Nouaze, J.C., Kim, Jae Hyung, Jeon, G.R., Kim, Jae Ho, 2022. Monitoring of Indoor Farming of Lettuce Leaves for 16 Hours Using Electrical Impedance Spectroscopy (EIS) and Double-Shell Model (DSM). *Sensors* 22, 9671. <https://doi.org/10.3390/s22249671>
- O'Brien, J.A.A., Vega, A., Bouguyon, E., Krouk, G., Gojon, A., Coruzzi, G., Gutiérrez, R.A.A., 2016. Nitrate Transport, Sensing, and Responses in Plants. *Mol. Plant* 9, 837–856. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.05.004>
- Odry, A., Vizvari, Z., Gyorfi, N., Kovacs, L., Eigner, G., Klincsik, M., Sari, Z., Odry, P., Toth, A., 2021. Application of Heuristic Optimization in Bioimpedance Spectroscopy Evaluation, in: *SACI 2021 - IEEE 15th International Symposium on Applied Computational Intelligence and Informatics, Proceedings*. IEEE, pp. 105–112. <https://doi.org/10.1109/SACI51354.2021.9465617>
- Ordiales, E., Gutiérrez, J.I., Zajara, L., Gil, J., Lanzke, M., 2016. Assessment of Utilization of Sheep Wool Pellets as Organic Fertilizer and Soil Amendment in Processing Tomato and Broccoli. *Mod. Agric. Sci. Technol.* 2, 20–35. [120](https://doi.org/10.15341/mast(2375-</p>
</div>
<div data-bbox=)

- Osztáryi, R., Mirmazloum, I., Pónya, Z., Szegő, A., Jamal, S., Bat-Erdene, O., Papp, I., 2020. Oxidative stress level and dehydrin gene expression pattern differentiate two contrasting cucumber F1 hybrids under high fertigation treatment. *Int. J. Biol. Macromol.* 161, 864–874. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.050>
- Padilla, F.M., Peña-Fleitas, M.T., Gallardo, M., Thompson, R.B., 2016. Proximal optical sensing of cucumber crop N status using chlorophyll fluorescence indices. *Eur. J. Agron.* 73, 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.11.001>
- Padilla, F. M., Thompson, R.B., Peña-Fleitas, M.T., Gallardo, M., 2018. Reference values for phenological phases of chlorophyll meter readings and reflectance indices for optimal N nutrition of fertigated tomato. *Acta Hortic.* 1192, 65–72. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1192.7>
- Pandey, M., Ganotra, J., Singh, A., Parchuri, P., Giri, J., 2025. Lipid-mediated responses to nutrient and other stresses: roles in plant adaptation and signaling. *J. Exp. Bot.* <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf482>
- Prasad A., Roy M., 2020. Bioimpedance analysis of vascular tissue and fluid flow in human and plant body: A review. *Biosyst. Eng.* 197, 170–187. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.06.006>
- Ramoelo, A., Cho, M.A., 2018. Explaining leaf nitrogen distribution in a semi-arid environment predicted on sentinel-2 imagery using a field spectroscopy derived modelss. *Remote Sens.* 10. <https://doi.org/10.3390/rs10020269>
- Rashid, M., Hussain, Q., Hayat, R., Ahmed, M., Riaz, M., Khan, K.S., Ashraf, M.I., Alvi, S., Basit, A., Khalid, R., 2022. Soil carbon and legumes. *Adv. Legum. Sustain. Intensif.* 329–344. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85797-0.00022-7>
- Repo, T., Korhonen, A., Laukkanen, M., Lehto, T., Silvennoinen, R., 2014. Detecting mycorrhizal colonisation in Scots pine roots using electrical impedance spectra. *Biosyst. Eng.* 121, 139–149. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2014.02.014>
- Repo, T., Zhang, G., Ryyppö, A., Rikala, R., 2000. The electrical impedance spectroscopy of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots in relation to cold acclimation. *J. Exp. Bot.* 51, 2095–2107. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.353.2095>

- Reynolds, J., Taggart, M., Martin, D., Lobaton, E., Cardoso, A., Daniele, M., Bozkurt, A., 2023. Rapid Drought Stress Detection in Plants Using Bioimpedance Measurements and Analysis. *IEEE Trans. AgriFood Electron.* 1, 135–144. <https://doi.org/10.1109/tafe.2023.3330583>
- Riccardi, M., Mele, G., Pulvento, C., Lavini, A., D’Andria, R., Jacobsen, S.E., 2014. Non-destructive evaluation of chlorophyll content in quinoa and amaranth leaves by simple and multiple regression analysis of RGB image components. *Photosynth. Res.* 120, 263–272. <https://doi.org/10.1007/s11220-014-9970-2>
- Richard-Molard, C., Krapp, A., Brun, F., Ney, B., Daniel-Vedele, F., Chaillou, S., 2008. Plant response to nitrate starvation is determined by N storage capacity matched by nitrate uptake capacity in two *Arabidopsis* genotypes. *J. Exp. Bot.* 59, 779–791. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm363>
- Saint-Denis, T., Goupy, J., 2004. Optimization of a nitrogen analyser based on the Dumas method. *Anal. Chim. Acta* 515, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.10.090>
- Schlüter, U., Mascher, M., Colmsee, C., Scholz, U., Bräutigam, A., Fahnenstich, H., Sonnewald, U., 2012. Maize source leaf adaptation to nitrogen deficiency affects not only nitrogen and carbon metabolism but also control of phosphate homeostasis. *Plant Physiol.* 160, 1384–1406. <https://doi.org/10.1104/pp.112.204420>
- Serrano-Finetti, E., Castillo, E., Alejos, S., León Hilario, L.M., 2023. Toward noninvasive monitoring of plant leaf water content by electrical impedance spectroscopy. *Comput. Electron. Agric.* 210. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2023.107907>
- Singleton, V.L., 1981. Naturally occurring food toxicants: Phenolic substances of plant origin common in foods. *Adv. Food Res.* 27, 149–242. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60299-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60299-2)
- Song, J., Wang, Y., Pan, Y., Pang, J., Zhang, X., Fan, J., Zhang, Y., 2019. The influence of nitrogen availability on anatomical and physiological responses of *Populus alba* × *P. glandulosa* to drought stress. *BMC Plant Biol.* 19. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1667-4>
- Stanley, D., Stanley, M.D., 2018. Package ‘apaTables.’
- Sun, J., Yang, J., Shi, S., Chen, B., Du, L., Gong, W., Song, S., 2017. Estimating rice leaf

- nitrogen concentration: Influence of regression algorithms based on passive and active leaf reflectance. *Remote Sens.* 9. <https://doi.org/10.3390/rs9090951>
- Tanentzap, F.M., Stempel, A., Ryser, P., 2015. Reliability of leaf relative water content (RWC) measurements after storage: Consequences for in situ measurements. *Botany* 93, 535–541. <https://doi.org/10.1139/cjb-2015-0065>
- Tegeder, M., Masclaux-Daubresse, C., 2018. Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use. *Wiley Online Libr. Tegeder, C Masclaux-DaubresseNew Phytol.* 2018•Wiley Online Libr. 217, 35–53. <https://doi.org/10.1111/NPH.14876>
- Tomkiewicz, D., Piskier, T., 2012. A plant based sensing method for nutrition stress monitoring. *Precis. Agric.* 13, 370–383. <https://doi.org/10.1007/S11119-011-9252-3>
- Toyoda, K., Tsenkova, R., 1998. Measurement of Freezing Process of Agricultural Products by Impedance Spectroscopy. *IFAC Proc. Vol.* 31, 89–94. [https://doi.org/10.1016/s1474-6670\(17\)44035-3](https://doi.org/10.1016/s1474-6670(17)44035-3)
- Väinölä, A., Repo, T., 2000. Impedance spectroscopy frost hardness evaluation of *Rhododendron* leaves. *Ann. Bot.* 86, 799–805. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1237>
- Valderrama-Martín, J.M., Ortigosa, F., Ávila, C., Cánovas, F.M., Hirel, B., Cantón, F.R., Cañas, R.A., 2022. A revised view on the evolution of glutamine synthetase isoenzymes in plants. *Plant J.* 110, 946–960. <https://doi.org/10.1111/tpj.15712>
- Van Haeveerbeke, M., De Baets, B., Stock, M., 2023. Evaluating the potential of Distribution of Relaxation Times analysis for plant agriculture. *Comput. Electron. Agric.* 213. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2023.108249>
- Vanaja, M. S.V., 2015. Variability in Drought Stress Induced Responses of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Genotypes. *Biochem. Physiol. Open Access* 04. <https://doi.org/10.4172/2168-9652.1000149>
- Van Herwaarden, A.F., Richards, R.A., Farquhar, G.D., Angus, J.F., 1998. “Haying-off”, the negative grain yield response of dryland wheat to nitrogen fertiliser. III. The influence of water deficit and heat shock. *Aust. J. Agric. Res.* 49, 1095–1110. <https://doi.org/10.1071/A97041>
- Vizvari, Z., Györfi, N., Odry, A., Sari, Z., Klincsik, M., Gergics, M., Kovacs, L., Kovacs, A., Pal, J., Karádi, Z., Odry, P., Toth, A., 2020. Physical validation of a residual impedance rejection method during ultra-low frequency bio-impedance spectral measurements.

- Sensors (Switzerland) 20, 1–20. <https://doi.org/10.3390/s20174686>
- Vouillot, M.O., Devienne-Barret, F., 1999. Accumulation and remobilization of nitrogen in a vegetative winter wheat crop during or following nitrogen deficiency. *Ann. Bot.* 83, 569–575. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0861>
- Vozáry, E., László, P., Zsivánovits, G., 1999. Impedance parameter characterizing apple bruise. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 873, 421–429. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09491.x>
- Wang, A.F., Di, B., Repo, T., Roitto, M., Zhang, G., 2020. Responses of parameters for electrical impedance spectroscopy and pressure-volume curves to drought stress in *Pinus bungeana* seedlings. *Forests* 11. <https://doi.org/10.3390/F11030359>
- Wang, B., Shen, Q., 2011. $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratios on growth and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ remobilization in root vacuoles and cytoplasm of lettuce genotypes. *Can. J. Plant Sci.* 91, 411–417. <https://doi.org/10.4141/CJPS10044>
- Wang, Y., Huang, Y., Fu, W., Guo, W., Ren, N., Zhao, Y., Ye, Y., 2020. Efficient physiological and nutrient use efficiency responses of maize leaves to drought stress under different field nitrogen conditions. *Agronomy* 10. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040523>
- Wang, Y.Y., Hsu, P.K., Tsay, Y.F., 2012. Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends Plant Sci.* 17, 458–467. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.006>
- Weinbaum, S.A., Johnson, R.S., DeJong, T.M., 2018. Causes and Consequences of Overfertilization in Orchards [WWW Document]. Horttechnology. <https://doi.org/10.21273/horttech.2.1.112b>
- Wickham, H., 2011. Ggplot2. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Stat.* 3, 180–185. <https://doi.org/10.1002/wics.147>
- Wu, L., Ogawa, Y., Tagawa, A., 2008. Electrical impedance spectroscopy analysis of eggplant pulp and effects of drying and freezing-thawing treatments on its impedance characteristics. *J. Food Eng.* 87, 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.12.003>
- Xing, D., Chen, L., Wu, Y., Zwiazek, J.J., 2021. Leaf physiological impedance and elasticity modulus in *Orychophragmus violaceus* seedlings subjected to repeated osmotic stress. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 276. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109763>

- Xiong, D., Chen, J., Yu, T., Gao, W., Ling, X., Li, Y., Peng, S., Huang, J., 2015. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. *Sci. Rep.* 5, 13389. <https://doi.org/10.1038/srep13389>
- Xu, E., Zhou, L., Ding, J., Zhao, N., Zeng, L., Zhang, G., Chi, Y., 2024. Physiological dynamics dominate the relationship between solar-induced chlorophyll fluorescence and gross primary productivity along the nitrogen gradient in cropland. *Sci. Total Environ.* 929. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172725>
- Xu, G., Fan, X., Miller, A.J., 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 153–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>
- Xu, G., Wolf, S., Kafkafi, U., 2001. Effect of varying nitrogen form and concentration during growing season on sweet pepper flowering and fruit yield. *J. Plant Nutr.* 24, 1099–1116. <https://doi.org/10.1081/PLN-100103806>
- Xu, Y., Xu, R., Li, S., Ran, S., Wang, J., Zhou, Y., Gao, H., Zhong, F., 2024. The mechanism of melatonin promotion on cucumber seedling growth at different nitrogen levels. *Plant Physiol. Biochem.* 206. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108263>
- Yaseen, A.A., Hájos, M.T., 2021. The Potential Role of Moringa Leaf Extract as Bio-Stimulant to Improve some Quality Parameters of Different Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Genotypes. *Sarhad J. Agric.* 37, 1107–1119. <https://doi.org/10.17582/journal.sja/2021/37.4.1107.1119>
- Yaseen, A.A., Takacs-Hajos, M., 2022. Evaluation of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extract on bioactive compounds of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown under glasshouse environment. *J. King Saud Univ. - Sci.* 34. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101916>
- Yin, Y., Zhu, J., Xu, X., Jia, M., Warner, T.A., Wang, X., Li, T., Cheng, T., Zhu, Y., Cao, W., Yao, X., 2023. Tracing the nitrogen nutrient status of crop based on solar-induced chlorophyll fluorescence. *Eur. J. Agron.* 149. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2023.126924>
- Youden, W.J., 1950. Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 3, 32–35. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(1950\)3:1<32::AID-CNCR2820030106>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-0142(1950)3:1<32::AID-CNCR2820030106>3.0.CO;2-3)
- Yousri, D.A., AbdelAty, A.M., Said, L.A., AboBakr, A., Radwan, A.G., 2017. Biological inspired optimization algorithms for cole-impedance parameters identification. *AEU - Int. J. Electron. Commun.* 78, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.aeue.2017.05.010>

- Yu, F., Wu, Y., Wang, J., Lian, J., Wu, Zhuo, Ye, W., Wu, Zhifeng, 2024. Robust hyperspectral estimation of eight leaf functional traits across different species and canopy layers in a subtropical evergreen broad-leaf forest. *Ecol. Indic.* 169. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2024.112818>
- Yu, P., Li, Chunhui, Li, M., He, X., Wang, D., Li, H., Marcon, C., Li, Y., Perez-Limón, S., Chen, X., Delgado-Baquerizo, M., Koller, R., Metzner, R., van Dusschoten, D., Pflugfelder, D., Borisjuk, L., Plutenko, I., Mahon, A., Resende, M.F.R., Salvi, S., Akale, A., Abdalla, M., Ahmed, M.A., Bauer, F.M., Schnepf, A., Lobet, G., Heymans, A., Suresh, K., Schreiber, L., McLaughlin, C.M., Li, Chunjian, Mayer, M., Schön, C.C., Bernau, V., von Wirén, N., Sawers, R.J.H., Wang, T., Hochholdinger, F., 2024. Seedling root system adaptation to water availability during maize domestication and global expansion. *Nat. Genet.* 56, 1245–1256. <https://doi.org/10.1038/s41588-024-01761-3>
- Yuan, L., Loqué, D., Kojima, S., Rauch, S., Ishiyama, K., Inoue, E., Takahashi, H., Von Wirén, N., 2007. The organization of high-affinity ammonium uptake in Arabidopsis roots depends on the spatial arrangement and biochemical properties of AMT1-type transporters. *Plant Cell* 19, 2636–2652. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.052134>
- Zandvakili, O.R., Barker, A. V., Hashemi, M., Autio, W.R., Etemadi, F., Sadeghpour, A., 2022. Influence of nitrogen source and rate on lettuce yield and quality. *Agron. J.* 114, 1401–1414. <https://doi.org/10.1002/agj2.20966>
- Zhang, B., Dong, Z., Sui, X., Gao, J., Feng, L., 2024. Detection of water content in tomato stems by electrical impedance spectroscopy: Preliminary study. *Comput. Electron. Agric.* 219. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2024.108755>
- Zhang, C., Zhang, Chi, Wu, X., Ping, J., Ying, Y., 2022. An integrated and robust plant pulse monitoring system based on biomimetic wearable sensor. *npj Flex. Electron.* 6. <https://doi.org/10.1038/s41528-022-00177-5>
- Zhang, M.I.N., Stout, D.G., Willison, J.H.M., 1992. Plant tissue 2. *J. Exp. Bot.* 43, 263–266. <https://doi.org/10.1093/jxb/43.2.263>
- Zhang, M.I.N., Willison, J.H.M., 1993. Electrical impedance analysis in plant tissues8. *J. Exp. Bot.* 44, 1369–1375. <https://doi.org/10.1093/jxb/44.8.1369>
- Zhang, M.I.N., Willison, J.H.M., 1992. Electrical impedance analysis in plant tissues: The

- effect of freeze-thaw injury on the electrical properties of potato tuber and carrot root tissues. *Can. J. Plant Sci.* 72, 545–553. <https://doi.org/10.4141/cjps92-068>
- Zhang, S., Du, X., Zhang, B., Wu, Y., Yang, X., Hu, X., Wu, C., 2025. Impedance-Driven Decoupling Water–Nitrogen Stress in Wheat: A Parallel Machine Learning Framework Leveraging Leaf Electrophysiology. *Agronomy* 15. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071612>
- Zhang, X., Yu, H.J., Zhang, X.M., Yang, X.Y., Zhao, W.C., Li, Q., Jiang, W.J., 2016. Effect of nitrogen deficiency on ascorbic acid biosynthesis and recycling pathway in cucumber seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 108, 222–230. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.07.012>
- Zhang, Z., Li, X., Tian, J., Chen, J., Gao, G., 2022. A review: Application and research progress of bioimpedance in meat quality inspection. *J. Food Process Eng.* 45, e14153. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14153>
- Zhao, D., Reddy, K.R., Kakani, V.G., Reddy, V.R., 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. *Eur. J. Agron.* 22, 391–403. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2004.06.005>
- Zhao, L.S., Li, K., Wang, Q.M., Song, X.Y., Su, H.N., Xie, B. Bin, Zhang, X.Y., Huang, F., Chen, X.L., Zhou, B.C., Zhang, Y.Z., 2017. Nitrogen Starvation Impacts the Photosynthetic Performance of *Porphyridium cruentum* as Revealed by Chlorophyll a Fluorescence. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08428-6>
- Zheng, L., Wang, Z., Sun, H., Zhang, M., Li, M., 2015. Real-time evaluation of corn leaf water content based on the electrical property of leaf. *Comput. Electron. Agric.* 112, 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2014.11.007>
- Zhou, J., Wu, S., Chen, J., Sun, B., Di, B., Shan, G., Qian, J., 2025. Electrical Impedance Spectroscopy Reveals Physiological Acclimation in Apple Rootstocks During Recurrent Water Stress Episodes. *Agron.* 2025, Vol. 15, Page 2068 15, 2068. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY15092068>
- Zhou, S., Zhou, J., Pan, Y., Wu, Q., Ping, J., 2024. Wearable electrochemical sensors for plant small-molecule detection. *Trends Plant Sci.* 29, 219–231. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2023.11.013>

- Zoltowski, P., 1998. On the electrical capacitance of interfaces exhibiting constant phase element behaviour. *J. Electroanal. Chem.* 443, 149–154. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(97\)00490-7](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(97)00490-7)
- Zotarelli, L., Scholberg, J.M., Dukes, M.D., Muñoz-Carpena, R., 2007. Monitoring of Nitrate Leaching in Sandy Soils. *J. Environ. Qual.* 36, 953–962. <https://doi.org/10.2134/jeq2006.0292>
- Zuur, A., Ieno, E., R, E.M.-A.B.G. to, 2009, undefined, 2009. An Introduction to the Lattice Package. Springer 169–193. https://doi.org/10.1007/978-0-387-93837-0_8

9.2 M2 (Táblázatok)

Függelék 1. táblázat: A két saláta fajta, a kezelés és azok kölcsönhatásainak hatása a válaszváltozókra.

Független változó	Függő változó	F-érték	p-érték	Hatásnagyság (η^2)
Fajta	Level NO_3^- tartalma (mg/g FW)	10,18	**	0,27
	Földfeletti biomassa (g/növény)	193,18	***	0,87
	Levél teljes N tartalma (%)	7,69	**	0,22
	MSI (%)	18,58	***	0,40
	Klorofill-a (mg/g FW)	75,73	***	0,73
	Klorofill-b(mg/g FW)	61,78	***	0,69
	Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	73,54	***	0,72
	Karotinoidok (mg/g FW)	15,22	***	0,35
	CCI	76,03	***	0,73
Kezelés (N0-N4)	Level NO_3^- tartalma (mg/g FW)	16,95	***	0,75
	Földfeletti biomassa (g/növény)	16,69	***	0,75
	Levél teljes N tartalma (%)	2,54	*	0,31
	MSI (%)	9,69	***	0,63
	Klorofill-a (mg/g FW)	47,53	***	0,89
	Klorofill-b (mg/g FW)	44,25	***	0,89
	Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	47,94	***	0,90
	Karotinoidok (mg/g FW)	9,86	***	0,64
	CCI	46,58	***	0,89
Kezelés és fajta közötti interakció	Level NO_3^- tartalma (mg/g FW)	2,44	ns	0,21
	Földfeletti biomassa (g/növény)	1,77	ns	0,16
	Levél teljes N tartalma (%)	0,44	ns	0,05
	MSI (%)	1,21	ns	0,12
	Klorofill-a (mg/g FW)	15,63	***	0,63
	Klorofill-b (mg/g FW)	18,49	***	0,66
	Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	16,89	***	0,64
	Karotinoidok (mg/g FW)	3,89	*	0,29
	CCI	3,72	*	0,28

‘*’ $p < 0.05$, ‘***’ $p < 0.01$, ‘****’ $p < 0.001$, ns: nem szignifikáns ($p > 0,05$). Az összpóba szignifikanciájára tekintettel az egyváltozós főhatásokat Bonferroni-korrekció alkalmazásával vizsgáltuk.

Függelék 2. táblázat: A két saláta fajta, a kezelés és azok kölcsönhatásainak hatása a BIS válaszváltozókra.

Független változó	Függő változó	F-érték	<i>p</i> -érték	Hatásnagyság (η^2)
Kezelés (N0-N4)	C_m (F)	31,72	***	0,59
	C_t (F)	3,91	**	0,15
	α	0,66	*	0,03
	β	1,80	*	0,07
	R_1 (Ω)	49,27	***	0,69
	R_2 (Ω)	4,89	**	0,18
	R_4 (Ω)	7,08	***	0,24
Fajta	C_m (F)	85,40	***	0,49
	C_t (F)	52,88	***	0,37
	α	63,05	***	0,41
	β	10,76	**	0,11
	R_1 (Ω)	185,42	***	0,67
	R_2 (Ω)	40,45	***	0,31
	R_4 (Ω)	14,48	***	0,14
Kezelés és Fajta közötti interakció	C_m (F)	7,74	***	0,26
	C_t (F)	2,81	ns	0,11
	α	0,50	*	0,02
	β	1,80	*	0,07
	R_1 (Ω)	2,00	*	0,08
	R_2 (Ω)	2,52	ns	0,10
	R_4 (Ω)	3,22	ns	0,13

‘**’ $p < 0.05$, ‘***’ $p < 0.01$, ‘****’ $p < 0.001$, ns: nem szignifikáns ($p > 0,05$). Az összpóba szignifikanciájára tekintettel az egyváltozós főhatásokat Bonferroni-korrekcó alkalmazásával vizsgáltuk. Jelölések: extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).

Függelék 3. táblázat: A két uborka genotípus, a kezelés és azok kölcsönhatásainak hatása a válaszváltozókra.

Független változó	Függő változó	F-érték	p-érték	Hatásnagyság (η^2)
Kezelés	Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	290,06	***	0,91
	Karotinoidok (mg/g FW)	187,26	***	0,87
	Földfeletti biomassa (g)	0,30	*	0,40
	Nem-fotokémiai kioltás (NPQ)	11,23	**	0,28
	Fotokémiai kioltás (1-qP)	11,43	**	0,28
	Elektrontranszport ráta (ETR)	8,34	**	0,22
	PSII maximális fotokémiai hatásfoka (Fv/Fm)	0,07	ns	0,00
	Tilakoidmembrán integritása (Fo/Fm)	0,07	ns	0,00
	PSII tényleges kvantumhatásfoka Y(II)	5,91	*	0,17
	RWC (%)	0,09	ns	0,08
	MSI (%)	17,19	***	0,37
	Levél NO ₃ ⁻ tartalma (mg/g FW)	108,02	***	0,79
	Levél teljes N tartalma (%)	13,41	**	0,32
	Teljes polifenol tartalma (mg/l GE)	7,54	*	0,21
	Antioxidáns kapacitás (μg/ml)	6,68	*	0,19
Genotípus	Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	3,38	ns	0,10
	Karotinoidok (mg/g FW)	0,30	ns	0,01
	Földfeletti biomassa (g)	2,56	ns	0,08
	Nem-fotokémiai kioltás (NPQ)	2,35	ns	0,07
	Fotokémiai kioltás (1-qP)	0,64	ns	0,02
	Elektrontranszport ráta (ETR)	23,37	***	0,45
	PSII maximális fotokémiai hatásfoka (Fv/Fm)	30,96	***	0,52
	Tilakoidmembrán integritása (Fo/Fm)	30,96	***	0,52
	PSII tényleges kvantumhatásfoka Y(II)	18,83	***	0,39
	RWC (%)	0,11	ns	0,09
	MSI (%)	34,99	***	0,55
	Levél NO ₃ ⁻ tartalma (mg/g FW)	2,82	ns	0,09
	Levél teljes N tartalma (%)	4,25	ns	0,13
	Teljes polifenol tartalma (mg/l GE)	0,55	ns	0,02
	Antioxidáns kapacitás (μg/ml)	6,48	*	0,18
Kezelés és genotípus közötti interakció	Teljes klorofill tartalom (mg/g FW)	1,11	ns	0,04
	Karotinoidok (mg/g FW)	0,06	ns	0,00
	Földfeletti biomassa (g)	4,37	ns	0,13
	Nem-fotokémiai kioltás (NPQ)	0,13	ns	0,00
	Fotokémiai kioltás (1-qP)	1,60	ns	0,05
	Elektrontranszport ráta (ETR)	1,71	ns	0,06
	PSII maximális fotokémiai hatásfoka (Fv/Fm)	1,13	ns	0,04
	Tilakoidmembrán integritása (Fo/Fm)	1,13	ns	0,04
	PSII tényleges kvantumhatásfoka Y(II)	2,70	ns	0,09
	RWC (%)	1,15	ns	0,37
	MSI (%)	11,29	ns	0,28
	Levél NO ₃ ⁻ tartalma (mg/g FW)	0,95	ns	0,03
	Levél teljes N tartalma (%)	2,43	ns	0,08
	Teljes polifenol tartalma (mg/l GE)	2,61	ns	0,08
	Antioxidáns kapacitás (μg/ml)	1,63	ns	0,05

Függelék 4. táblázat: A kezelés, a két uborka genotípus és ezek kölcsönhatásának hatása a BIS- paraméterekre.

Független változó	Függő változó	F-érték	p-érték	Hatásnagyság (η^2)
Genotípus	C_m (F)	36,03	***	0,11
	C_t (F)	4,10	*	0,01
	R_1 (Ω)	12,59	***	0,04
	R_2 (Ω)	77,17	***	0,21
	R_4 (Ω)	12,84	***	0,04
	α	6,19	*	0,02
	β	0,46	ns	0,00
Kezelés	C_m (F)	360,40	***	0,55
	C_t (F)	4,10	*	0,01
	R_1 (Ω)	214,98	***	0,42
	R_2 (Ω)	127,92	***	0,30
	R_4 (Ω)	19,13	***	0,06
	α	2,45	ns	0,01
	β	24,61	***	0,08
Kezelés és genotípus közötti interakció	C_m (F)	1,91	ns	0,01
	C_t (F)	4,10	*	0,01
	R_1 (Ω)	7,42	*	0,02
	R_2 (Ω)	18,39	***	0,06
	R_4 (Ω)	15,75	***	0,05
	α	1,08	ns	0,00
	β	0,15	ns	0,00

‘*’ $p < 0.05$, ‘**’ $p < 0.01$, ‘***’ $p < 0.001$, ns: nem szignifikáns ($p > 0,05$). Az összpróba szignifikanciájára tekintettel az egyváltozós főhatásokat Bonferroni-korrekció alkalmazásával vizsgáltuk. Jelölések: extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).

Függelék 5. táblázat: Az illesztett paraméterek átlagos értékei az ‘ES2217 F₁’ és a ‘Nairobi F₁’ uborkagenotípusokban.

Paraméterek	‘ES2217 F ₁ ’ (Átlag ± SD)		‘Nairobi F ₁ ’ (Átlag ± SD)	
	Alacsony N	Optimális N	Alacsony N	Optimális N
	(2,2mM)	(11mM)	(2,2mM)	(11mM)
R_1 (Ω)	5,5E+04 ± 1,1E+03 ^{Ab}	4,0E+04 ± 6,4E+02 ^{Aa}	5,0E+04 ± 1,1E+03 ^{Bb}	3,9E+04 ± 4,8E+02 ^{Aa}
R_2 (Ω)	8,6E+03 ± 3,6E+02 ^{Ab}	6,0E+03 ± 1,8E+02 ^{Aa}	1,3E+04 ± 4,9E+02 ^{Bb}	7,7E+03 ± 3,8E+02 ^{Ba}
R_4 (Ω)	1,2E+00 ± 2,4E-01 ^{Ab}	2,0E-01 ± 3,0E-02 ^{Aa}	3,0E-01 ± 3,1E-02 ^{Ba}	2,5E-01 ± 3,2E-02 ^{Ba}
C_m (F)	3,0E-10 ± 5,9E-12 ^{Aa}	4,2E-10 ± 8,5E-12 ^{Ab}	2,5E-10 ± 8,4E-12 ^{Ba}	3,9E-10 ± 4,8E-12 ^{Bb}
C_t (F)	1,1E-28 ± 9,7E-29 ^{Aa}	9,1E-30 ± 1,9E-30 ^{Aa}	7,1E-13 ± 3,5E-13 ^{Bb}	1,6E-29 ± 5,1E-30 ^{Aa}
α	7,4E-01 ± 1,2E-02 ^{Aa}	7,4E-01 ± 2,2E-03 ^{Aa}	7,8E-01 ± 1,2E-02 ^{Aa}	7,5E-01 ± 4,4E-03 ^{Ba}
β	4,8E-01 ± 2,5E-02 ^{Ab}	3,9E-01 ± 4,6E-03 ^{Aa}	5,0E-01 ± 2,6E-02 ^{Ab}	4,0E-01 ± 9,3E-03 ^{Aa}

Az eltérő kisbetűk a kezelések (optimális N és alacsony N) közötti szignifikáns különbségeket jelzik azonos genotípuson belül. Az eltérő nagybetűk az azonos kezelés mellett a genotípusok közötti szignifikáns különbségeket jelzik ($p < 0,05$). Extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).

Függelék 6. táblázat: A BIS-változók diagnosztikai teljesítménye az N-kezelések osztályozásában az ‘ES2217 F₁’ genotípus esetében.

Változó	R_1 (Ω)	R_2 (Ω)	R_4 (Ω)	C_m (F)	C_t (F)	α	β
Küszöbérték	0,60	0,44	0,47	0,51	0,54	0,50	0,54
Valódi pozitív (TP)	65,00	65,00	67,00	65,00	59,00	65,00	74,00
Valódi negatív (TN)	66,00	45,00	39,00	68,00	52,00	47,00	13,00
Hamis pozitív (FP)	9,00	30,00	36,00	7,00	23,00	28,00	62,00
Hamis negatív (FN)	10,00	10,00	8,00	10,00	16,00	10,00	1,00
Pontosság	0,87	0,73	0,71	0,89	0,74	0,75	0,58
Érzékenység (Recall)	0,87	0,87	0,89	0,87	0,79	0,87	0,99
Specifitás	0,88	0,60	0,52	0,91	0,69	0,63	0,17
Precizitás	0,88	0,68	0,65	0,90	0,72	0,70	0,54
Kiegyensúlyozott pontosság	0,87	0,73	0,71	0,89	0,74	0,75	0,58
F1-mutató	0,87	0,76	0,75	0,88	0,75	0,77	0,70
Esélyhányados	1,00	1,00	0,13	inf	0,00	0,45	0,00
AUC (görbe alatti terület)	0,91	0,76	0,73	0,91	0,77	0,69	0,42

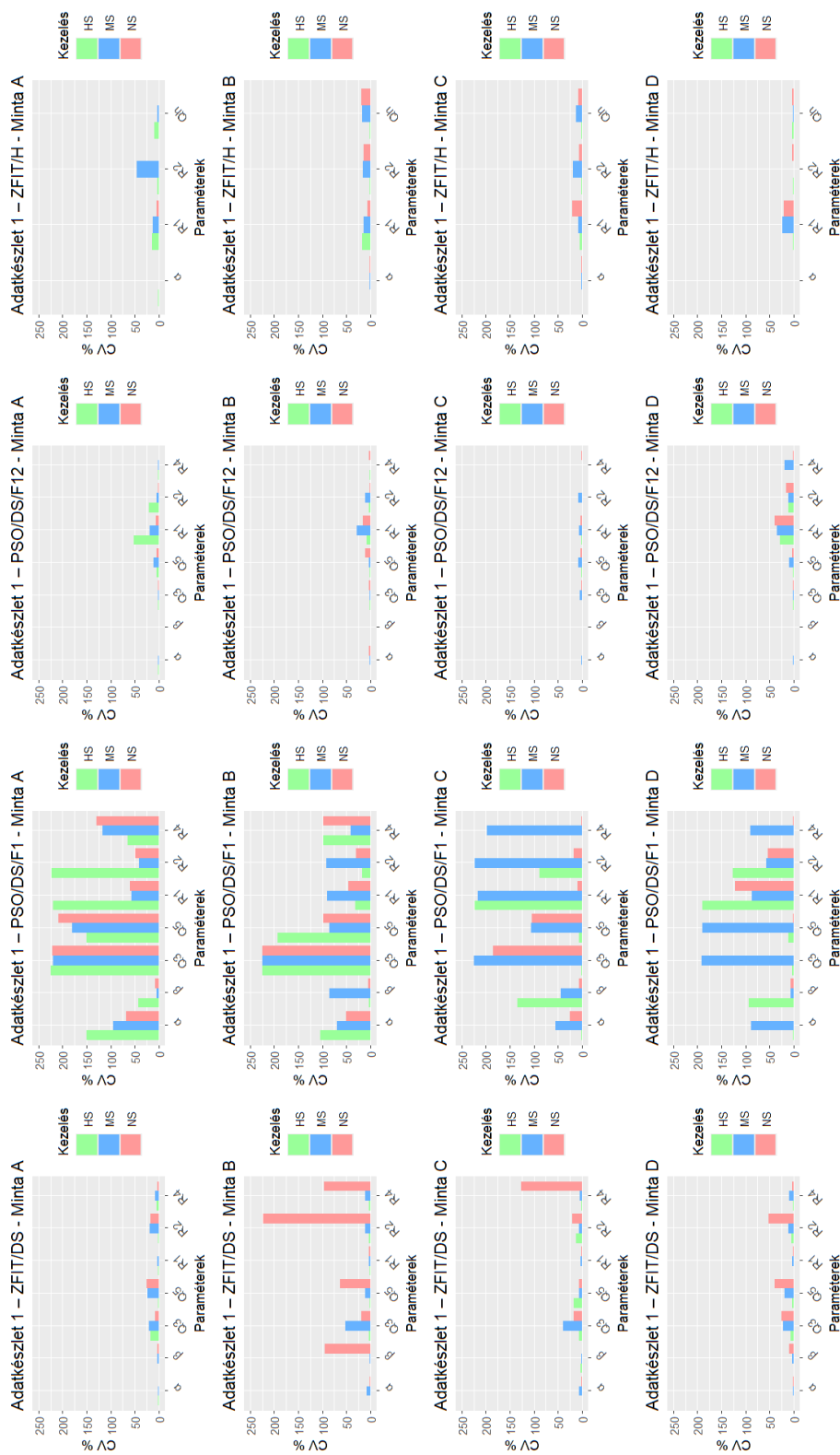
TP = Valódi pozitív, TN = Valódi negatív, FP = Hamis pozitív, FN = Hamis negatív, $TP+TN+FP+FN=N$, Pontosság = $(TP+TN)/N$, Érzékenység (Recall)= $TP/(TP+FN)$, Specifitás = $TN/(TN+FP)$, Precizitás= $TP/(TP+FP)$, Kiegyensúlyozott pontosság = $(\text{Érzékenység} + \text{Specifitás})/2$, $F1$ mutató = $(2 \times \text{Precizitás} \times \text{Érzékenység})/(\text{Precizitás} + \text{Érzékenység})$, Esélyhányados = $(TP/FP)/(FN/TN)$, AUC = görbe alatti terület. Az ‘Inf.’ a végtelent jelöli, amely akkor fordul elő, amikor $FN = 0$, és a nullával való osztás következtében a számítás során az esélyhányados (Odds Ratio) végtelenné válik. Extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).

Függelék 7. táblázat: A BIS-változók diagnosztikai teljesítménye az N-kezelések osztályozásában az ‘Nairobi F₁’ genotípus esetében.

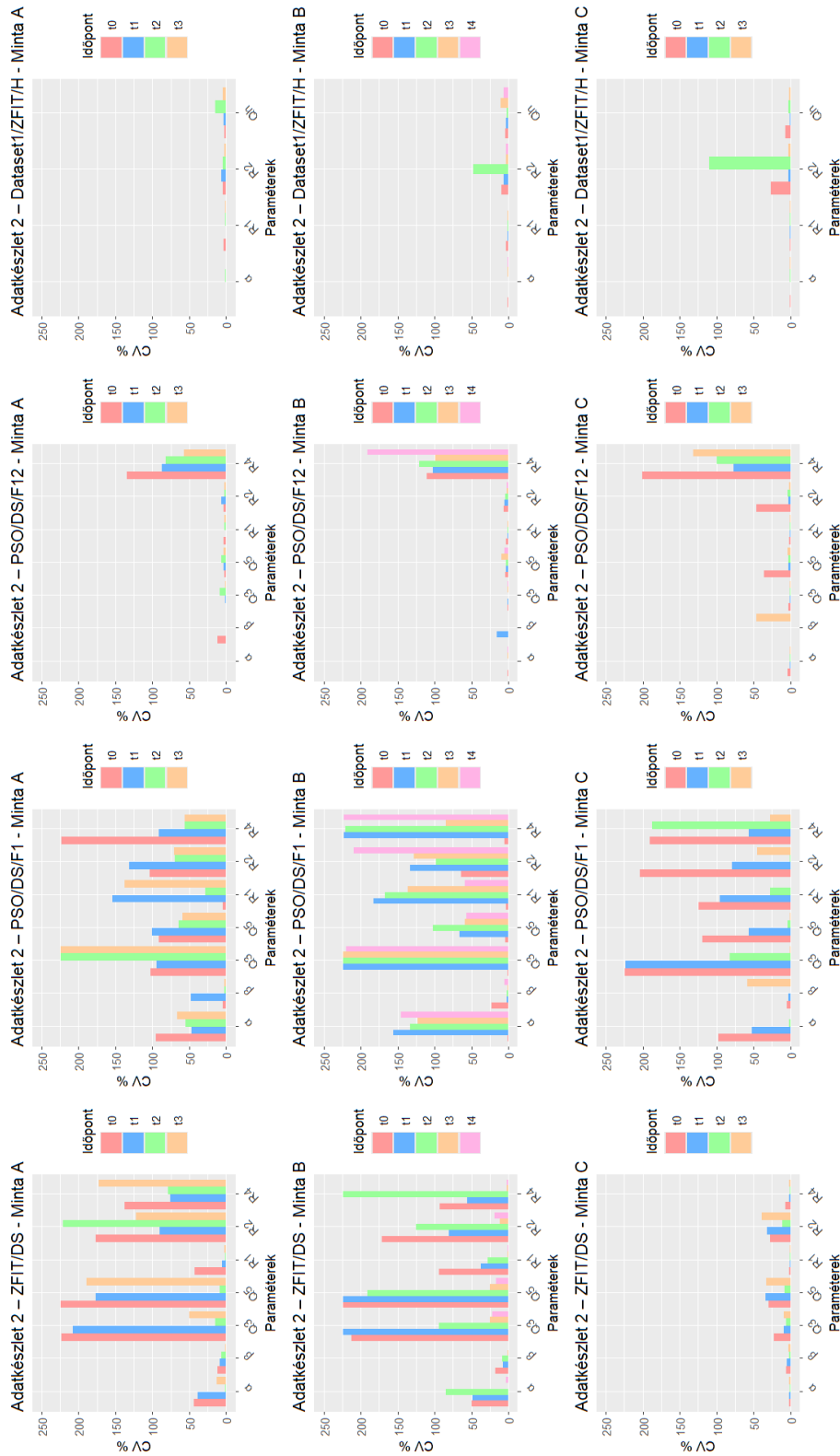
Változó	R_1 (Ω)	R_2 (Ω)	R_4 (Ω)	C_m (F)	C_t (F)	α	β
Küszöbérték	0,25	0,33	0,53	0,39	0,55	0,50	0,34
Valódi pozitív (TP)	75,00	69,00	28,00	75,00	65,00	47,00	74,00
Valódi negatív (TN)	39,00	52,00	59,00	61,00	57,00	56,00	14,00
Hamis pozitív (FP)	36,00	23,00	16,00	14,00	18,00	19,00	61,00
Hamis negatív (FN)	0,00	6,00	47,00	0,00	10,00	28,00	1,00
Pontosság	0,76	0,81	0,58	0,91	0,81	0,69	0,59
Érzékenység (Recall)	1,00	0,92	0,37	1,00	0,87	0,63	0,99
Specifitás	0,52	0,69	0,79	0,81	0,76	0,75	0,19
Precizitás	0,68	0,75	0,64	0,84	0,78	0,71	0,55
Kiegyensúlyozott pontosság	0,76	0,81	0,58	0,91	0,81	0,69	0,59
F1-mutató	0,81	0,83	0,47	0,91	0,82	0,67	0,70
Esélyhányados	1,00	1,00	0,51	Inf	0,00	0,01	0,01
AUC (görbe alatti terület)	0,83	0,86	0,57	0,92	0,85	0,73	0,41

TP = Valódi pozitív, TN = Valódi negatív, FP = Hamis pozitív, FN = Hamis negatív, $TP+TN+FP+FN=N$, Pontosság = $(TP+TN)/N$, Érzékenység (Recall)= $TP/(TP+FN)$, Specifitás = $TN/(TN+FP)$, Precizitás= $TP/(TP+FP)$, Kiegyensúlyozott pontosság = $(\text{Érzékenység} + \text{Specifitás})/2$, $F1$ mutató = $(2 \times \text{Precizitás} \times \text{Érzékenység})/(\text{Precizitás} + \text{Érzékenység})$, Esélyhányados = $(TP/FP)/(FN/TN)$, AUC = görbe alatti terület. Az ‘Inf.’ a végtelent jelöli, amely akkor fordul elő, amikor $FN = 0$, és a nullával való osztás következtében a számítás során az esélyhányados (Odds Ratio) végtelenné válik. Extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).

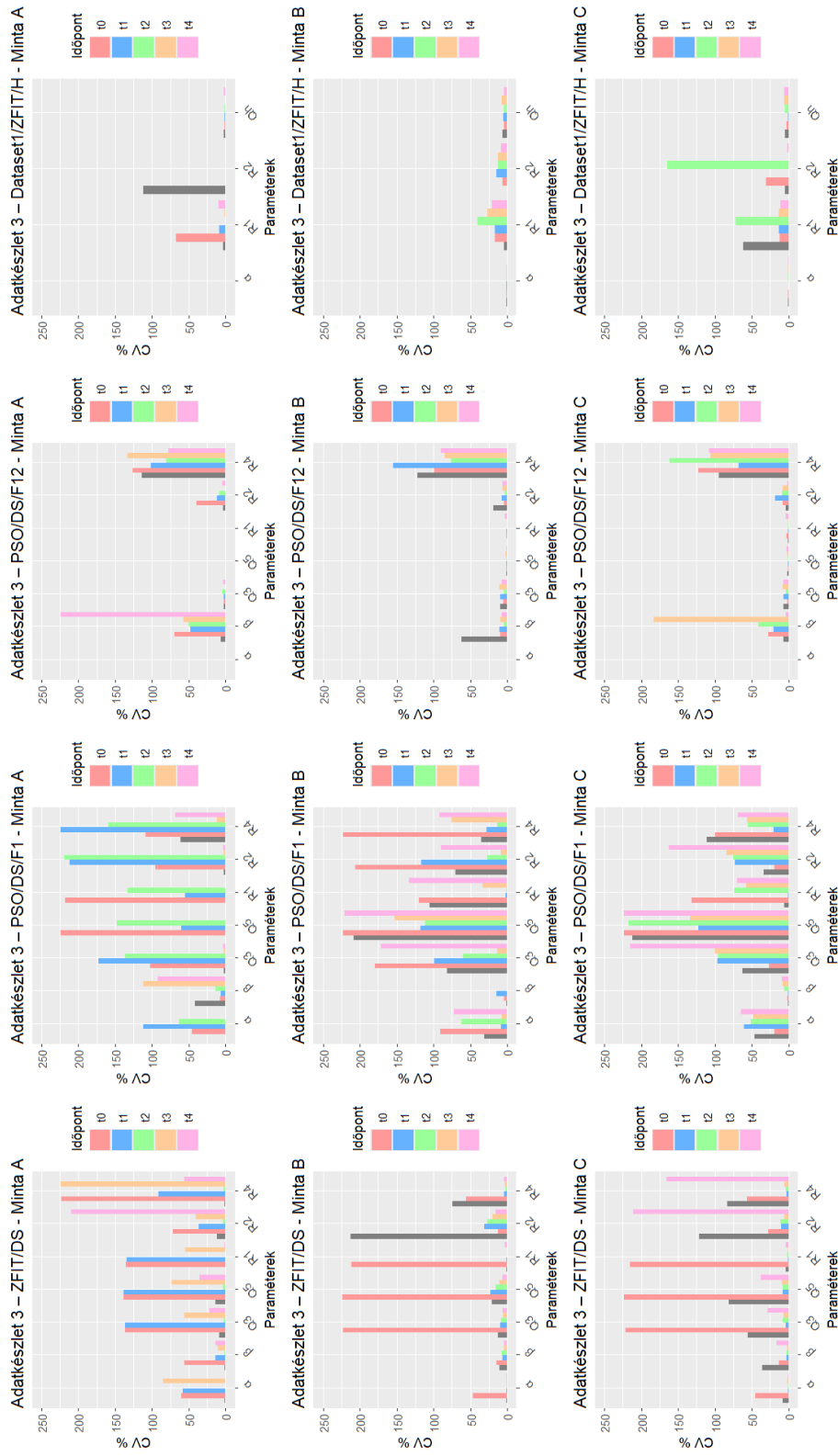
9.3 M3 (Ábrák)



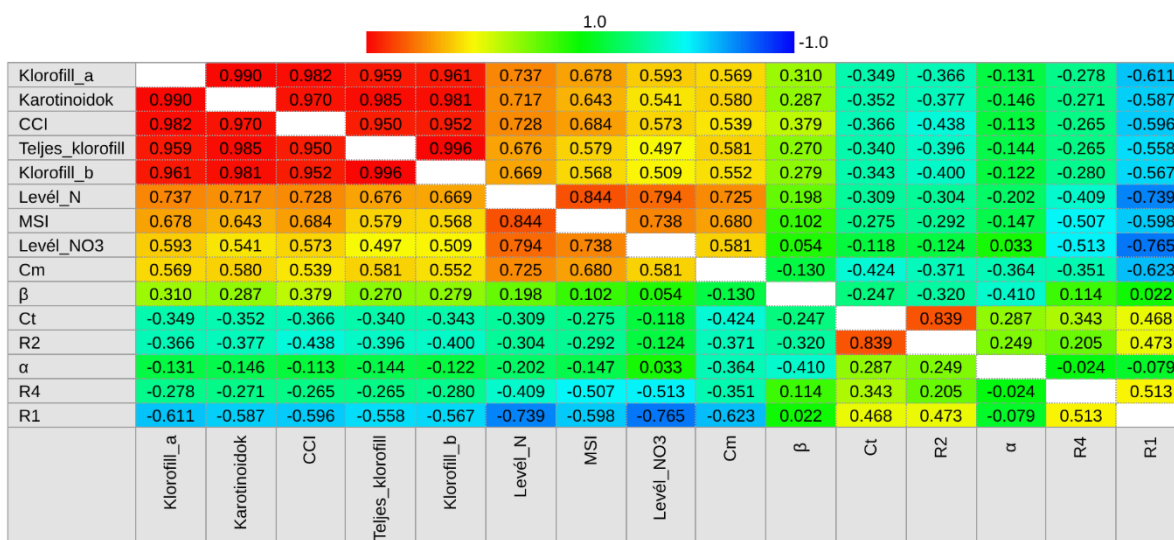
Függelék 1. ábra: A BIS-paraméterek variációs koefficiense (CV) az Adatkészlet 1 kezelései között. (NS: normál vízellátottságú, MS: közepes vízstressz, HS: erős vízstressz). Jelölések: extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).



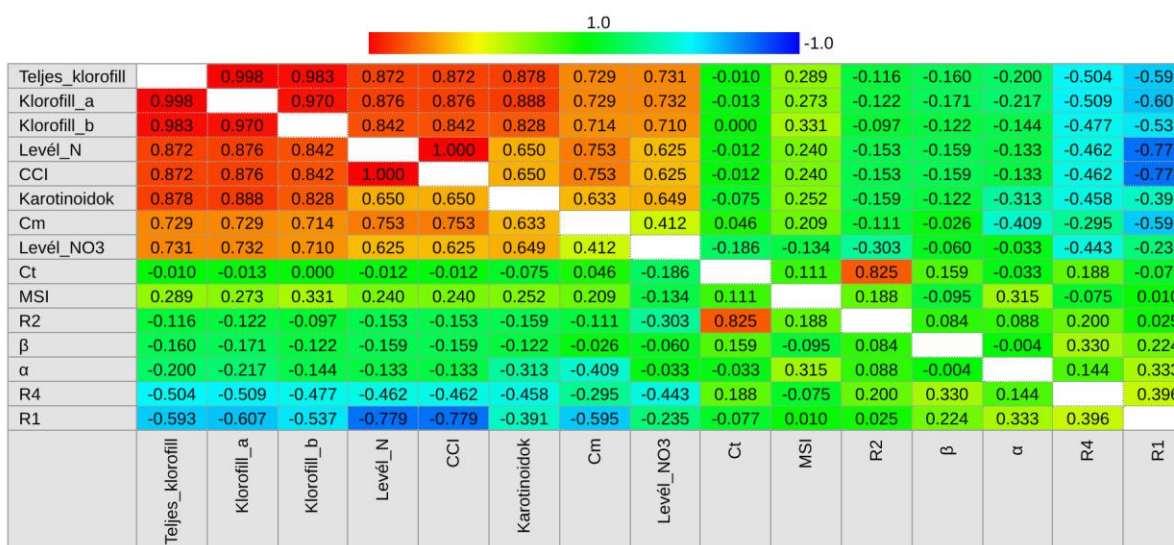
Függelék 2. ábra: A BIS-paraméterek variációs koefficiense (CV) az Adatkészlet 2 kezelési között. Jelölések: extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).



Függelék 3. ábra: A BIS-paraméterek variációs koefficiense (CV) az Adatkészlet 3 kezelési között. Jelölések: extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_L), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán).



Függelék 4. ábra: A BIS- és növényélettani paraméterek közötti korrelációs mátrix a ‘Kobak’ fajta esetében. Extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán), klorofill-a tartalom (klorofill_a), klorofill-b tartalom (klorofill_b), teljes klorofill tartalom (teljes_klorofill), membránstabilitási index (MSI), levél NO_3^- tartalma (Levél_NO3), levél N tartalma (Levél_N), klorofill koncentrációs index (CCI).



Függelék 5. ábra: A BIS- és növényélettani paraméterek közötti korrelációs mátrix a ‘Május király’ fajta esetében. Extracelluláris folyadék ellenállása (R_1), intracelluláris folyadék ellenállása (R_2), vakuólumfolyadék ellenállása (R_4), sejtmembrán kapacitása (C_m), vakuólummembrán kapacitása (C_t), α paraméter (vakuólummembrán), β paraméter (plazmamembrán), klorofill-a tartalom (klorofill_a), klorofill-b tartalom (klorofill_b), teljes klorofill tartalom (teljes_klorofill), membránstabilitási index (MSI), levél NO_3^- tartalma (Levél_NO3), levél N tartalma (Levél_N), klorofill koncentrációs index (CCI).

NYILATKOZAT

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Kovács Flórián
Neptun-kódja:	GAVCUW
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	☐ BSc/BA ☐ MSc/MA ☒ Doktori (PhD) ☐ Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	
A munka címe:	A bioimpedancia spektroszkópia alkalmazhatósága a növények nitrogén-ellátottságának megfigyelésére

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

☐ A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)

☒ B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Kérjük, töltsse ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrektúra, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)
Angol nyelvű forrás fordítása magyarra	DeepL fordító	Irodalmi áttekintés, 10-14 oldal, néhány mondat

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka mellékletében való csatolása szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott eszköz verziója, elérhetősége	MI-neve,	Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma
-	-	-	-	-

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:

Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok:

.....

.....

.....

.....

4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: Budapest, 2026. 04 hó 27 nap

Kv F26

Hallgató aláírása

Olga K. H. H.

Konzulens/Témavezető aláírása

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni hálámat témavezetőimnek, Dr. Juhos Katalinnak és Dr. Vizvári Zoltánnak a munkám során nyújtott folyamatos, magas színvonalú szakmai iránymutatásért, valamint a vizsgálatok elvégzéséhez szükséges laboratóriumi és műszaki háttér biztosításáért.

Köszönettel tartozom Dr. Odry Ákosnak és Dr. Odry Péternek a bioimpedancia mérések során nyújtott segítségükért, hasznos tanácsaikért, valamint a kutatómunkám teljes időtartama alatt tanúsított támogatásukért. Szakmai kérdéseimmel bármikor bizalommal fordulhattam hozzájuk.

Köszönetemet fejezem ki a Környezettudományi Intézet Agrárkörnyezettani Tanszék vezetőjének, Dr. Kardos Leventének, valamint a tanszék valamennyi munkatársának a támogatásukért.

Külön köszönöm Dr. Ladányi Mártának a magas színvonalú statisztikai képzést, amely elengedhetetlen alapot biztosított a dolgozat elkészítéséhez.

Végül hálás vagyok családomnak és barátaimnak a folyamatos támogatásukért, valamint a kísérletek kivitelezésében nyújtott önzetlen segítségükért. Bízgatásuk nagymértékben hozzájárult a kutatómunka sikeres megvalósításához.