

Soproni Egyetem
Erdőmérnöki Kar

VII. KARI TUDOMÁNYOS KONFERENCIA

konferencia kiadvány

2019. február 12.

SOPRONI EGYETEM
ERDŐMÉRNÖKI KAR



A konferenciát és a konferenciakötet megjelenését az „EFOP-3.6.1-16-2016-00018 – A felsőoktatási rendszer K+F+I szerep-vállalásának növelése intelligens szakosodás által Sopronban és Szombathelyen” című projekt támogatta.

A kötet publikációit lektorálták: Bartha Dénes, Bidló András, Brolly Gábor, Czímber Kornél, Czupy Imre, Faragó Sándor, Frank Norbert, Pájet-Gálos Borbála, Gribovszki Zoltán, Heil Bálint, Hofmann Tamás, Horváth Adrienn, Horváth Tamás, Jánoska Ferenc, Kalicz Péter, Király Angéla, Király Gergely, Kovács Gábor, Lakatos Ferenc, László Richárd, Mátyás Csaba, Szakálosné Mátyás Katalin, Rétfalvi Tamás, Tuba Katalin, Veperdi Gábor, Vityi Andrea, Winkler Dániel

A kötet szakmai előkészítését az MTA VEAB Erdészettudományi Munkabizottsága támogatta.



Soproni Egyetem Kiadó 2019

ISBN978-963-334-322-7 (nyomtatott verzió)

978-963-334-323-4 (on-line verzió)

On-line verzió elérhetősége: http://emk.uni-sopron.hu/images/dekani_hivatal/Kiadvanyok/KariTudomanyosKonferencia/KariTudomanyosKonferencia2019.pdf

Szerkesztette: Király Gergely
Facskó Ferenc

Ajánlott hivatkozás:

KIRÁLY G. – FACSKÓ F. (szerk.) (2019): Soproni Egyetem Erdőmérnöki Kar VII. Kari Tudományos Konferencia. Soproni Egyetem Kiadó Sopron.

Tartalomjegyzék

Gribovszki Zoltán, Csáki Péter, Kalicz Péter, Zagyvainé Kiss Katalin: Erdő és víz – Kutatások az Erdőmérnöki Karon.....	5
Bende Attila, László Richárd: Erdei szalonka (<i>Scolopax rusticola</i> L.) színváltozatok és kúriózumok Magyarországon.....	9
Polgár András, Kovács Zoltán, Elekné Fodor Veronika: Szántóföldi növénytermesztés környezeti életciklus elemzése	16
Rákóczi Attila: A zöldítés és a tájhasználat összefüggései Békés megyében.....	25
Tari Tamás, Sándor Gyula, Heffenträger Gábor, Náhlik András: A gímszarvas élőhelyhasználatának jellemzői a Soproni-hegyvidéken	30
Szalay László: The amazing world of Fibonacci sequence.....	37
Barton Iván, Czimmer Kornél, Király Géza, Moskal L. Monika: Faállomány típusok térképezése Sentinel-2 ürfelvétel idősorozaton deep learning osztályozóval	41
Brolly Gábor, Primusz Péter, Bazsó Tamás, Király Géza: Több műszerállásból készített lézerszkennelések tájékozása erdőállományok felmérése során	48
Horváth Tamás, Gál János: Nelder kísérlet Magyarországon.....	54
Gálos Borbála, Csáki Péter, Gribovszki Zoltán, Kalicz Péter, Zagyvai Gergely, Tiborcz Viktor, Bartha Dénes, Hofmann Tamás, Visi Rajecz Eszter, Balázs Pál, Bidló András, Horváth Adrienn: Multidiszciplináris adatbázis és oktatási segédanyag fejlesztés komplex erdészeti klímahatás elemzések végzéséhez	58
Heilig Dávid, Heil Bálint, Kovács Gábor: A vízellátottság és a tápanyag-utánpótlás hatása egy midi rotációs nemesnyárültetvény növekedésére.	64
Horváth Attila László, Sudár Ferenc János, Szakálosné Mátyás Katalin: Folyamatgépesített fakitermelések vizsgálata	71
Kollár Tamás: Új adatok a magyarországi bükkösök faterméséről	76
Molnár Tamás, Birinyi Mátyás, Somogyi Zoltán, Király Géza: A 2017. áprilisi bükki hókarok felmérése és elemzése ürfelvételek alapján	81
Kiss Péter Áron, Rákosa Rita, Németh Zsolt István: Spektrumelőkészítési eljárások hatása biodegradált faanyag FT_IR spektrumainak értékelésében	88
Balázs Balázs, Tuba Katalin, Lakatos Ferenc: Kékülést okozó gombák és a szúbogarak kapcsolata.....	92
Bende Attila, László Richárd: Az erdei szalonka (<i>Scolopax rusticola</i> L.) színváltozatok előfordulása 2017-ben Magyarországon	96
Csáki Péter, Czimmer Kornél, Király Géza, Kalicz Péter, Zagyvainé Kiss Katalin Anita, Gribovszki Zoltán: A CREMAP párolgástérkép leskálázása erdőállományok vízháztartásának vizsgálatához.....	102
Horváth Attila László, Horváth Béla, Szakálosné Mátyás Katalin: Harveszterek munkamínőségének vizsgálata.....	107
Kalicz Péter, Csáki Péter, Zagyvainé Kiss Katalin Anita, Gribovszki Zoltán: A lombkoronán áthulló csapadék mérésnek automatizálási lehetőségei.....	113
Komán Szabolcs, Németh Róbert, Fehér Sándor: <i>Paulownia</i> -fajok faanyagának tulajdonságai.....	117
Komán Szabolcs, Varga Dávid: Nyártermesztés Magyarországon	121
Major Tamás, Pintér Tamás: Mag- és sarjeredetű akác állományok választék-összetételének vizsgálata a SEFAG Erdészeti és Faipari Zrt. területén	126
Palkó Ákos, Winkler Dániel: Patakmenti égerligetek talajlakó faunájának (<i>Collembola</i>) vizsgálata a Soproni-hegységben	131
Papp Viktória: Ipari melléktermékek és faanyag keverék pelletek előállítása és energetikai értékelése.....	135

Polgár András: A környezetközpontú irányítás gyakorlatának helyzetértékelése Sopron városában	141
Polgár András, Elekné Fodor Veronika: Környezeti vonatkozású helyi sajtóinformációk vizsgálata Sopronban	149
Rákosa Rita, Vargovics Máté, Németh Zsolt István: FT-IR-ATR spektrometria alkalmazhatósága gomba tenyészetek fajspecifikus megkülönböztetésére.....	156
Stofa Krisztián, Virág Szabolcsné, Gálos Borbála: A kitettség napi hőmérséklet menetre gyakorolt hatásának számszerűsítése a Harkai kúpon	161
Szalay Dóra: RED II. – A generációk találkozása	164
Szőke Előd, Csáki Péter, Kalicz Péter, Zagyvainé Kiss Katalin Anita, Gribovszki Zoltán: Vízpótlási rendszerek hatásai egy somogyi erdőtömbön belül a vízfolyás menti zónák vízforgalmára	169
Vágvölgyi Andrea, Kovács Gábor: Energetikai faültetvények értékelő pontrendszere..	174
Visiné Rajczi Eszter, Albert Levente, Hofmann Tamás: Tobozok antioxidáns polifenol tartalmának felmérése.....	178
Zagyvainé Kiss Katalin Anita, Csáki Péter, Kalicz Péter, Szőke Előd, Gribovszki Zoltán: Agrárerdészeti rendszerek hidrológiai jellemzői	182

FT-IR-ATR SPEKTROMETRIA ALKALMAZHATÓSÁGA GOMBA-TENYÉSZETEK FAJSPECIFIKUS MEGKÜLÖNBÖZTETÉSÉRE

RÁKOSA RITA – VARGOVICS MÁTÉ – NÉMETH ZSOLT ISTVÁN

Soproni Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Kémiai Intézet

rakosa.rita@uni-sopron.hu

Bevezetés

A növénypatogén gombák fajai világszerte komoly gazdasági és ökológiai károkat okoznak. Azonosításukhoz és a megfelelő védekezési stratégia kidolgozásához gyors diagnosztikai eljárások szükségesek. A detektálás történhet hagyományos módszerekkel, pl. a fertőzött növényi rész közvetlen mikroszkópos vizsgálatával, vagy a környezeti mintákból történő közvetlen kitenyésztés útján. A morfológiai alapú azonosítási eljárások mellett megbízhatóbbaknak bizonyultak az immunreakción alapuló módszerek és a DNS alapú molekuláris vizsgálatok (O'BRIEN *et al.* 2009). Ezek azonban költség- illetve időigényesek.

A Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiát (FT-IR) széles körben alkalmazzák biológiai minták vizsgálatára is (LECELLIER *et al.* 2014; MOVASAGHI *et al.* 2008; OBERLE *et al.* 2015; SALMAN *et al.* 2012), főként olyan taxonok esetében, amelyek morfológiai sajátosságok alapján nehézkesen vagy egyáltalán nem osztályozhatók. Ebbe a körbe tartoznak a *Phytophthora* nemzetség tagjai is, amelyek a hazai erdőállományokat is veszélyeztetik (SZABÓ *et al.* 2013). A spektrometriás vizsgálati megközelítést sokváltozós adatértékelési eljárásokkal kombinálva lehetővé válik az IR spektrumok fajspecifikusságra utaló rejtett információ tartalmának feltárása (LECELLIER *et al.* 2014; OBERLE *et al.* 2015; SALMAN *et al.* 2012).

Kutatásunkban *Phytophthora* tenyészetek spektrális megkülönböztetésére reflexiós (ATR) technikára alapozott vizsgálati eljárást dolgoztunk ki. Az FT-IR spektrometria bázisú kemometriai értékelési stratégia a módszerfejlesztés tényezőinek (a micélium mintavételi időpontjának, száradási időtartalmának, a háttér spektrum bizonytalanságának és a minta ismételt pozicionálásának) ATR spektrumokra gyakorolt potenciális hatásainak felderítésére, s azok alapján javasolt vizsgálati eljárás tesztelésére irányult.

Anyag és módszer

A spektrum felvételeket Shimadzu gyártmányú, IRAffinity-1 típusú, HATR-10 totálreflexiós kiegészítőegységgel felszerelt FT-IR spektrométerrel végeztük. A spektrumokat 4000-670 cm^{-1} hullámszám tartományban, 1 cm^{-1} felbontással vettük fel. A jel/zaj viszony növeléséhez az időbeli átlagolás módszerével 49 egymást követően felvett spektrumnak az átlagát képeztük.

Vizsgálatainkhoz standardizált burgonya kivonat agar táptalajon kifejlődő *Phytophthora* tenyészeteket használtunk. A tenyészeteket (*P. cambivora*, *P. taxon raspberry*, *P. cactorum*, *P. plurivora*, *P. lacustris*, *P. gonapodyides*) az Erdővédelmi Intézet bocsátotta rendelkezésünkre. A micéliumtenyészet és az agar-mátrix térbeli elkülönítése végett az agar-agar felületére szemi-permeabilis hátyát (celofán) helyeztünk, ami a micélium akadálytalan növekedését és a tápanyag felvételt is biztosította. A micéliumokkal benőtt celofán eltávolítása után a minták légszáraz állapotig száradtak, majd a celofán felületéről lekapart micéliumport helyeztük az ATR mintatartó egykristályára. Napi gyakorisággal, egy héten keresztül mintáztuk az azonos időpontban oltott micélium tenyészet készletet. 1-1,5 óra száradás után egymást követően három spektrumot vettünk fel azonos háttér és változatlan minta pozíció mellett. Ezután a micéliumport tovább szárítottuk, s új háttér, valamint minta pozicionálással megismételtük az FT-IR spektrometriás vizsgálatot.

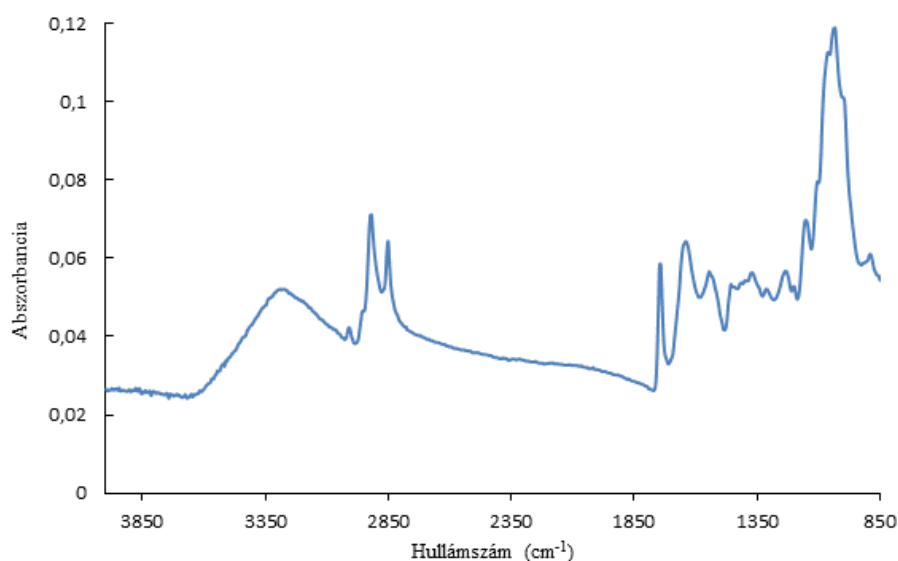
Spektrum adatelőkészítés és adatértékelés

A spektrumokon atmoszféra korrekciót alkalmaztunk (IRsolution, Manipulation 2). Ily módon a levegő pára és szén-dioxid tartalmai által előidézett fényelnyelési csúcsok utólagosan eltávolíthatóvá váltak. A spektrumokat 5 cm^{-1} értékűekre simítottuk, majd $670\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományra parabolikus trendmentesítést, illetve $840\text{--}1485\text{ cm}^{-1}$ tartományra SNV (standard normal variate) transzformációt hajtottunk végre.

A micélium tenyészetek IR spektrumainak értékeléséhez főkomponens-elemzést (PCA) és lineáris diszkriminancia analízist (LDA) alkalmaztunk. A leszűkített tartományú simított, trendmentesített és SNV transzformált spektrumok képezték a PCA és LDA értékelések input mátrixát.

Vizsgálati eredmények és értékelésük

A micélium genetikailag meghatározott fehérjéinek és az egyéb kémiai összetevőknek az anyagi minőségei és mennyiségei leképződnek az FT-IR spektrumban. Az 1. ábra egy jellegzetes fitoftóra FT-IR spektrumot mutat, ahol a karakterisztikus, adott hullámszámú fényelnyelési csúcsok a micélium kémiai összetevőitől: fehérjétől, lipidektől és szénhidrátoktól erednek. A spektrumokon az $2800\text{--}2990\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományban megjelenő csúcs a C–H vegyértékrezgéshez, az 1740 cm^{-1} -nél pedig a C=O vegyértékrezgéshez rendelhető. A fehérjék jellegzetes abszorpciós sávjai $1625\text{--}1695\text{ cm}^{-1}$ -nél (amid I) és $1525\text{--}1560\text{ cm}^{-1}$ -nél (amid II) láthatók. A $970\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományban megfigyelhető csúcs a szénhidrátok C–O vegyérték rezgési átmeneteinek az eredménye (1. táblázat).



1. ábra: *Phytophthora taxon raspberry* FT-IR spektruma

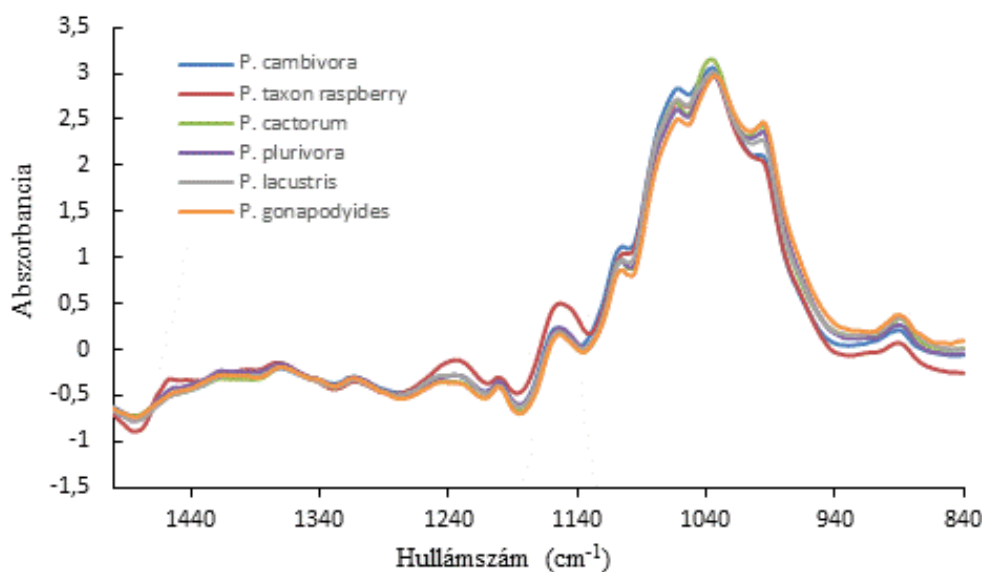
A 2. ábra a különböző gombatenyészetek simított és SNV transzformált spektrumait szemlélteti. A minták FT-IR spektrumai közötti szignifikáns eltérések visszatükrözik a fajok (változatok) kémiai összetételének eltéréseit. Így az FT-IR spektrum áttételese a micélium tenyészet genetikai sajátosságairól nyújt tájékoztatást.

Az FT-IR spektrumok sokváltozós értékelésével a különböző micélium tenyészetek fajspecifikusan osztályokba sorolhatók. Az adatelőkészítési eljárásokat követően a spektrumokon főkomponens-elemzést (PCA) hajtottunk végre. A PCA felbontással előállított főkomponensek információt szolgáltatnak az adathalmaz teljes varianciájáról és az egyes főkomponensek részvarianciáiról. Az adathalmaz hasznos információtartalmát meghatározó főkomponens számot az MCD (mean coefficients of determination) mátrix-skalár függvény

indikátorral határoztuk meg (NÉMETH és RÁKOSA 2018). A tenyészetek faji besorolását kifejező fontos főkomponensek száma 6-nak adódott, amelyek a teljes varianciának több mint 96%-át magyarázzák (2. táblázat). Ennek köszönhetően kellő mértékűre csökkenthető a dimenziószám, ami az adatkezelést és értékelést jelentősen egyszerűsíti.

1. táblázat: Gomba-minták karakterisztikus IR fényelnyelési sávjai (LECELLIER et al. 2014) (ν_s :szimmetrikus vegyértékrezgés, ν_{as} :aszimmetrikus vegyértékrezgés, δ : ollózó deformációs rezgés)

Hullámszám (cm^{-1})	Kötés	Rezgési mód	Vegyülettípus
3500-3200	O – H	ν_s, ν_{as}	Víz
3200-2800	C – H	ν_s, ν_{as}	Lipidek
	N – H	ν_s	Fehérjék
1780-1700	C = O	ν_s	Zsírsavak
1695-1625	C = O, C – N	ν_s	Fehérjék (amid I)
	N – H	δ	
1560-1525	C – N	ν_s	Fehérjék (amid II)
	N – H	δ	
1480-1400	C – H	δ	Lipidek
	C = O	ν_{as}	
1200-900	C – O – C	ν_s	Szénhidrátok
900-700	C – H	δ	Aromás csoportok



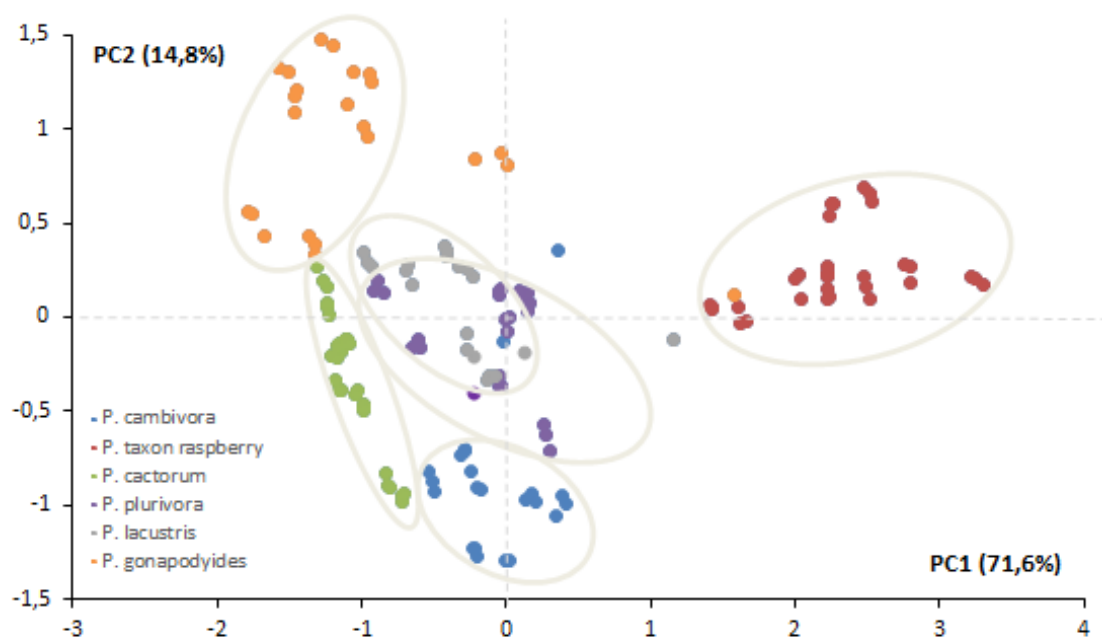
2. ábra: Fitoftóra tenyészetek transzformált átlag spektrumai

2. táblázat: A determinisztikus főkomponensek és a hozzájuk tartozó variancia

Főkomponensek	1	2	3	4	5	6	Σ
Magyarázott variancia (%)	71,62	14,77	6,09	1,89	1,23	1,03	96,63

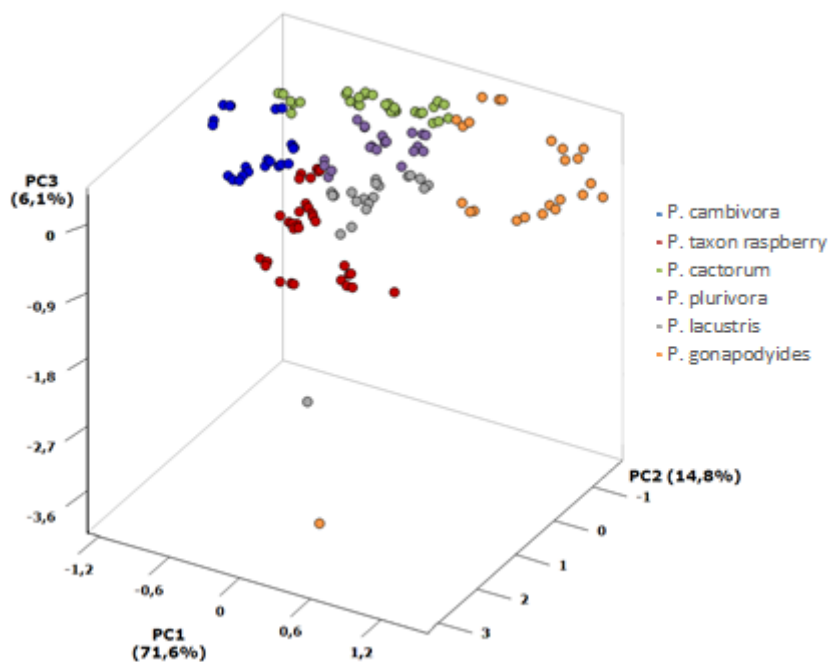
A determinisztikus főkomponensek tere felhasználható csoportelemzésre. Ennek kétdimenziós alterei az ún. „score plot” ábrák, amelyek betekintést engednek a minták térbeli csoportosulásaiba. Az egyes főkomponens vektorok egymással való korreláltatásaival előállított score plot ábrákon megjelennek a micélium tenyészetek többdimenziós, főkomponens-térbeli csoportosulásainak síkbeli vetületei, ahol az egyes mintákat pontok jelképezik.

A minták közötti hasonlóságokat illetve különbségeket az egymáshoz viszonyított távolságok fejezik ki.



3. ábra: Gomba spektrumok főkomponens analízisének 2D „score plot”-ja

Már a kétdimenziós, kisebb magyarázott varianciájú score plot ábrán (3. ábra) is érzékelhető az eltérő törzsu mintáknak a síkbeli elkülönülése. A *P. plurivora* és *P. lacustris* csoportok azonban átfedik egymást. A score plot-ok információ-feltáró képessége korlátozott, ami a főkomponensek összegzett részvarianciájának függvénye. Minél több főkomponensre vonatkozik a csoportelemzés, annál nagyobb a valószínűsége a körvonalazódó csoportok létezésének. A háromdimenziós főkomponens térben (4. ábra) már a *P. plurivora* és *P. lacustris* csoportok is elkülönülnek egymástól.



4. ábra: Gomba spektrumok PCA felbontásának háromdimenziós főkomponens ábrája

A minták számszerűsíthető elkülönítésére a determinisztikus főkomponensek által meghatározott dimenziótérre lineáris diszkriminancia analízist (PCA-LDA) hajtottunk végre, mely a Mahalanobis-féle távolságok alapján sorolja csoportokba az egyes mintákat. Az első két főkomponens koordináta-rendszerére redukálódó LDA elemzés a *P. lacustris* minták közül hármat a *P. plurivora* osztályba sorolt, a *P. plurivora* minták osztályozása megfelelő volt. Az LDA a 48 mintából mindössze 3-at sorolt be másik csoportba, ami 93,75%-os megbízhatóságot jelent. Három főkomponens bevonásával az összes minta kategorizálása sikeres volt, így diszkriminancia-analízissel teljes mértékben elkülöníthető volt a két osztály egymástól.

Összefoglalás

A micélium-porminták FT-IR spektrumai visszatükrözik a micélium genetikailag meghatározott kémiai összetevőinek minőségét és mennyiségét. A primér spektrumokon alkalmazott adatelőkészítés biztosította a spektrumok rejtett információtartalmának a feltárását. A kidolgozott vizsgálati eljárás alkalmas a különböző micélium-tenyészetek fajspecifikus elkülönítésére. A PCA főkomponensek *score plot* ábrái alapján megállapítható az elkülönülés az egyes csoportok között és ez a diszkriminancia-analízissel számszerűsíthető. Az FT-IR-ATR spektrometriás eljárás genetikai vizsgálatoknak potenciális kiegészítő protokolljává válhat.

Köszönetnyilvánítás: A kutató munka a „Fenntartható Nyersanyag-gazdálkodási Tematikus Hálózat – RING 2017” című, EFOP-3.6.2-16-2017-00010 jelű projekt részeként a Széchenyi 2020 program keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Irodalomjegyzék

- LECELLIER, A. – MOUNIER, J. – GAYDOU, V. – CASTREC, L. – BARBIER, G. – ABLAIN, W. – MANFAIT, M. – TOUBAS, D. – SOCKALINGUM, G.D. (2014): Differentiation and identification of filamentous fungi by high-throughput FTIR spectroscopic analysis of mycelia. *International Journal of Food Microbiology* 168–169. 32–41.
- MOVASAGHI, Z. – REHMAN, S. – REHMAN, I. (2008): Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews* 43. 134–179.
- NÉMETH Z. I. – RÁKOSA R. (2018): Detectability of concentration-dependent factors by application of PCA. An indicator curve for the determination of important principal components and a post-correction for transformation of principal components to factors. *Journal of Chemometrics* 32 (4), e2998, ISSN: 1099-128X. DOI: 10.1002/cem.2998.
- OBERLE, J. – DIGHTON, J. – ARBUCKLE-KEIL, G. (2015): Comparison of methodologies for separation of fungal isolates using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and Fourier transform infrared attenuated total reflectance (FTIR-ATR) microspectroscopy. *Fungal biology* 119. 1100–1114.
- O'BRIEN, P. A. – WILLIAMS, N. – HARDY, G. E. StJ. (2009): Detecting *Phytophthora*. *Critical Reviews in Microbiology* 35(3) 169–181.
- SALMAN, A. – LAPIDOT, I. – POMERANTZ, A. – TSROR, L. – SHUFAN, E. – MOREH, R. – MORDECHAI, S. – HULEIHEL, M. (2012): Identification of fungal phytopathogens using Fourier transform infrared-attenuated total reflection spectroscopy and advanced statistical methods. *J. Biomed. Opt.* 17. 017002.
- SZABÓ I. – LAKATOS F. – SIPOS GY. (2013): Occurrence of soilborne *Phytophthora* species in declining broadleaved forests in Hungary. *European Journal of Plant Pathology* 137. 159–168.