

Szent István Egyetem
Környezettudományi Doktori Iskola

Talaj-ökotoxikológiai vizsgálatok a közönséges televényféreggel
(*Enchytraeus albidus*)

Doktori (Ph.D) értekezés

Somogyi Zoltán

Gödöllő
2012

A doktori iskola

megnevezése: Környezettudományi Doktori Iskola

tudományága: Környezettudomány

vezetője: **Dr. Heltai György**
egyetemi tanár, MTA Doktora, tanszékvezető
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Környezettudományi Intézet
Kémia és Biokémia Tanszék

témavezető: **Dr. Kiss István**
egyetemi docens, P.hD.
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi Alapok Intézet
Állattani és Állatökológiai Tanszék

konzulens: **Dr. Bakonyi Gábor**
MTA doktor, egyetemi tanár
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi Alapok Intézet
Állattani és Állatökológiai Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

.....
A konzulens jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS.....	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	9
2.1. A nehézfémek	9
2.1.1. A fémek talajba kerülése, az elemek csoportosítása.....	9
2.1.2. A fémek biológiai szerepe, a felszívódás és a mérgezés hatásmechanizmusa	9
2.1.3. Fémek a talajban és a táplálékláncban	10
2.1.4. A kísérletben vizsgált nehézfémek ismertetése	11
2.2. A szelén	13
2.2.1. A szelén szerepe a talajban	14
2.2.2. A szelén és a növények.....	16
2.2.3. A szelén és az állatok, a szelén és az ember.....	18
2.2.4. A szelén Magyarországon	20
2.3. Talajlakó állatok, mint tesztszervezetek.....	21
2.3.1. A vizsgálati módszerek fejlődése, lehetséges új irányok az ökotoxikológiában.....	22
2.4. A közönséges televényféreg (<i>Enchytraeus albidus</i> Henle, 1837).....	25
2.4.1. A televényféreg biológiája.....	25
2.4.2. Nehézfémek hatása a televényféregre	28
2.4.3. Ökotoxikológiai tesztek a közönséges televényféreggel (<i>Enchytraeus albidus</i>).....	30
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	39
3.1. A kísérleti állatok	39
3.2. Mikroelemek hatástartam vizsgálata	40
3.2.1. A mikroelem hatástartam vizsgálat során használt talaj származása.....	40
3.2.2. A mikroelem hatástartam vizsgálat során használt talaj szennyezése.....	40
3.2.3. A mikroelem hatástartam vizsgálat beállítása	42
3.2.4. A mikroelem hatástartam vizsgálat lebontása	44
3.3. Különböző szelénformák akut hatásvizsgálata	44
3.3.1. A vizsgált talajok	44
3.3.2. Vizsgálati anyagok.....	45
3.3.3. Módszer.....	45
3.4. Az eredmények statisztikai értékelése.....	49
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	51
4.1. A mikroelem hatástartam vizsgálat eredményei	51
4.1.1. Szelén vizsgálata.....	51
4.1.2. Nehézfémek vizsgálata – 810kg/ha kijutatott hatóanyagtartalom.....	52
4.1.3. Nehézfémek vizsgálata – 270kg/ha kijutatott hatóanyagtartalom.....	54
4.1.4. A mikroelem hatástartam vizsgálat eredményeinek értékelése	55
4.2. Különböző szelénformák akut hatásvizsgálatának eredményei.....	57
4.2.1. Kompolti talajon végzett kísérletek eredményei.....	57
4.2.2. Nagyhörösöki talajon végzett kísérletek eredményei.....	64
4.2.3. Karcagi talajon végzett kísérletek eredményei.....	70
4.2.4. A szelénformák akut hatásvizsgálati eredményeinek értékelése.....	76
4.3. Új tudományos eredmények	77

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	79
5.1. Mikroelemek hatástartam vizsgálata	79
5.2. Különböző szelénformák akut hatásvizsgálata	81
6. ÖSSZEFOGLALÁS	85
7. SUMMARY	87
8. IRODALOMJEGYZÉK	91
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	101

1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

Az emberiség egyre aggasztóbb problémája a talaj, a víz és a levegő növekvő mértékű elszennyeződése. Társadalmunk fejlődése nem kis mértékben a különböző kémiai elemek felhasználásán alapul. A növekvő népesség egyre nagyobb szükségletének, igényeinek kielégítése a termelés és a fogyasztás exponenciális növekedéséhez vezetett. Az ásványi nyersanyagok kitermelése és felhasználása egészen a közelmúltig olyan ütemben és mértékben történt, mintha a készletek kimeríthetetlenek lennének a Földön.

Az elmúlt évszázadban Magyarország gazdasági struktúrája is jelentős változásokon esett át. Különösen a II. világháborút követően felgyorsult az iparosodás, erőteljesen nőtt a mezőgazdaság kémizálása és gépesítése. Ugrásszerűen nőtt a különböző környezeti elemek, mint a levegő, a víz és különösen a talaj szennyezése (Kádár 1998a). Az 1960-as évek óta végzett kutatások eredményei egyértelműen mutatják, hogy különösen az ipari, mezőgazdasági körzetekben ugrásszerűen megemelkedet a talaj mikroelem és nehézfém koncentrációja. Igaz, hogy számos esetben ezek a szintek még nem érik el azt az értéket, hogy az emberre akut módon hassanak, a táplálékláncban felhalmozódva ugyanakkor hosszú távon bizonyíthatóan egészségkárosodást okozhatnak (Csathó 1994).

Az ember, döntően a talajban termesztett növényekből származó élelemre utalt. A talajok és a ráható környezeti tényezők között dinamikus egyensúly áll fenn. Ez az egyensúly a növekvő emberi tevékenység hatására mind sérülékenyebbé válik. A földi élő rendszerek, így a talaj sem képesek rövidtávon alkalmazkodni a drasztikus környezeti átalakulásokhoz. A különböző mikroelemekkel, nehézfémekkel szennyezett talajok alapvető környezeti problémát jelentenek, hiszen számos elem a feltalajban maradvá hosszú évtizedekig megőrizheti potenciális mérgező hatását. A már szennyezett területeket ezért megkülönböztetett figyelemmel kell kezelni. Törekedni kell ezen elemek talajban lejátszódó kémiai folyamatainak, növények általi felvehetőségének, a táplálékláncban betöltött szerepük, viselkedésük mind szélesebb körű megismerésére.

Ahhoz hogy a talajjal kapcsolatos vizsgálatok fontosságát, bonyolultságát megértsük, be kell látnunk milyen nehéz megfogalmazni, mi is egyáltalán a talaj. Ahány tudományág szemszögéből nézzük, annyiféle magyarázat található. Az agráregyetemen honos talajtani szemlélet szerint, a talaj a Föld legkülső szilárd burka, mely a növények termőhelyéül szolgál. Alapvető tulajdonsága a termékenység, vagyis az a képesség, hogy kellő időben és a szükségelt mennyiségben képes ellátni a növényeket vízzel és tápanyaggal. Ebből következik, hogy a talajtani tudománya a talaj tulajdonságaival, kialakulásával és hasznosításával foglalkozik (Stefanovits 1975). Az ELTE talajbiológusai

számára készített tankönyv azt hangsúlyozza, hogy a talaj tipikus nyílt ökológiai rendszer, amely magában foglal egy élő biológiai és egy élettelen abiotikus háromfázisú (gáz, folyékony és szilárd halmazállapotú) alrendszert, melyek szorosan összefonódnak. Bennük az anyagcsere utak lehetnek biológiailag szabályozottak és kémiaiak (pl. adszorpció az agyagásványok felületén), a folyamatok azonban nehezen különíthetők el. Az anyag- és energiaáramlás állandó a talaj és a környezete között (Szabó 1986). Ha azonban növényélettani szempontból közelítjük meg a kérdést, a következő definíciót kapjuk: a talaj szilárd, folyékony és gáz fázisból álló heterogén rendszer, mely lehetővé teszi a növényi-állati és mikrobiális életet a talajban és annak felszínén. A szervetlen és szerves részekből álló szilárd fázis főként tápanyagtároló; a folyadékfázist jelentő talajoldat a tápanyagok szállítója és a fiziko-kémiai, biológiai átalakulások közege. A gázcsere főként az O_2 és N_2 beáramlását és a CO_2 távozását jelenti (Mengel 1976). A talaj legáltalánosabb természettudományi meghatározása a talajképző folyamatokból indul ki. A talaj olyan háromdimenziós test vagy képződmény a földkéreg legfelső szintjén, mely az anyakőzet, klíma, relief, élő szervezetek, emberi tevékenység és az időtényező kölcsönhatásának eredményeképpen keletkezett. Tulajdonságaiban és minőségében eltér a kőzettől, saját levegője, vize és élővilága van, az élő és az élettelen természet határterületét jeleníti meg (Kádár 1998a).

E néhány magyarázatból is látszik, mennyi aspektusból vizsgálható a talaj, és hogy a nézőpontoknak megfelelően miként változik a talaj definíciója. Sokkal könnyebb a konszenzust megtalálni a talajszennyezés vonatkozásában. Szinte egységes az álláspont abban, hogy a talaj sokrétű hasznosítási módja és funkciói miatt a talajszennyezés összetett, politikai kérdés. A talaj korlátozottan áll rendelkezésünkre és emellett folyamatosan pusztul. Nagy értékű talajfelületeket használunk évente ipari, lakásépítési, úthálózati célokra. A civilizáció nélkülözhetetlen műtárgyai erőteljesen megváltoztatják a földalatti természetes vízfolyásokat és a talaj-vízszintet. A nem megfelelő mezőgazdasági talajhasználat szintén erózióhoz, talajpusztuláshoz vagy talajszennyezéshez vezet. A talaj tehát a levegőhöz és vízhez hasonlóan védelemre szorul. Ez azonban a talajtakaró pontos ismeretét (talajtani-, geológiai-, hidrogeológiai- kémiai tulajdonságok) igényli. Az ilyen irányú kutatás és számbavétel, a különböző célú alkalmazhatóság vizsgálata, térképezése hazánkban is alapszükséglet, mely egyben nemzetközi összehasonlítás céljaira is szolgálhat. A helytelen talajhasználat következményeinek elhárításához szintúgy nélkülözhetetlen a tudományos kutatás és szakemberképzés. A probléma összetettsége tudományközi együttműködést és nemzetközi tapasztalatcserét igényel. Meghatározónak kell lennie azoknak a nemzeti kutatásoknak és helyi vizsgálatoknak, amelyek az ország-részenkénti, régiókénti eltéréseket hivatottak feltárni (Kádár 1998a). A környezetszennyezés fő forrásai a közlekedés, a fosszilis tüzelőanyagok, mint a szén és az olaj égetése (fűtés, energiatermelés), az ipar, a bányászat. A települések, valamint az ipar növekvő szemétermelése, szennyvize

mellett nem elhanyagolható a mezőgazdaság terhelése műtrágyákkal, peszticidekkel, szerves trágyákkal, mezőgazdasági eredetű szennyvizekkel, iszapokkal és porral. A szennyezők jelentős része közvetlenül a levegőbe kerül gázok, gőzök, füst, korom, por alakjában. Bizonyos idő után száraz vagy nedves üledékként kicsapódnak, a talajfelszínre jutnak. A közeg (víz, talaj, levegő) szennyezettsége mérhető közvetlenül, felhasználva a legmodernebb analitikai berendezéseket. A mérés azonban gyakran drága és a kapott eredmények nem tükrözik a környezet és a szervezet kölcsönhatását, a különböző mikroelemek táplálékláncba kerülését, felvételét vagy hiányát. A bioteszt vagy bioindikátor gyakran egyszerűbb és olcsóbb megoldást jelent és mindezek mellett tájékoztat a környezet minőségének változásairól. A bioindikátorok lehetővé teszik olyan elemek mozgásának és felhalmozódásának nyomon követését, melyek a közegben nehezen mérhetők. Az élő szervezet rendelkezik azzal a képességgel, hogy a nyomokban jelen levő elemeket koncentrálna testében, így az emberi tevékenység nyomán szétszóródó anyagokat szelektíven felhalmozza (Kádár 1995). Az így bekövetkező változásokat sokszor igen korán, méretbeli, szaporodásbeli paramétereinek megváltozásával jelzi.

Toxikusnak tekintünk egy anyagot (kémiai elemet, vegyületeit, szerves anyagot), amennyiben káros hatást fejt ki a talajra, a növényre, az állatra és az emberre. Számos ásványi elem nélkülözhetetlen vagy legalábbis előnyös élettani hatású, de mérgezővé vagy károssá válik túlsúlya esetén. A talaj szennyezettség tehát az adag, a terhelés, illetve a koncentráció függvénye. A toxicitás más oldalról is relatív fogalmat takar. Mértékét a fajlagos, azaz egységnyi koncentrációra eső negatív hatással (terméscsökkenés, megbetegedés) mérhetnénk. Ez a hatás nem független azonban a környezetben előforduló más anyagok, kémiai elemek jelenlététől vagy hiányától, a lehetséges kölcsönhatásoktól. Ez a hatás függ az expozíciós időtől is. A rendszeres, tartós, kis adagú terhelés alattomosabb lehet, mert nehezebben észrevehető az akkumuláció. A növekvő terhelés krónikus zavarokat, míg az egyszeri nagy adag akut megbetegedést, a letális dózis pedig pusztulást okozhat. Másként jelentkezik a károsodás a fejlődés különböző stádiumaiban, eltérhet nemenként, fajonként, egyedenként. Fontos lehet, hogy a káros anyag milyen formában található. A toxicitás kritériuma, hogy az anyag könnyen oldható, illetve felvehető legyen. Összefoglalva megállapítható, hogy a toxicitás problémája rendkívül összetett. A mérgező vagy káros hatás függhet számos tényezőtől, mint a koncentráció, ionállapot vagy oxidációs fok, expozíciós idő, vegyület formája, fizikai eloszlás és fajlagos felület, a rendszerben előforduló más anyagok jelenléte és azokkal való kölcsönhatás, az élő szervezettel történő érintkezés módja és a bejutás körülményei (felületre, táplálékba, közvetlenül vérbe vagy tüdőbe).

A talaj szennyezettségének megállapításakor tudatában kell lennünk a mintavétel és az analízis hibaforrásainak mértékéről. Még ha kellő gondossággal vizsgáltuk is meg a területet és becsültük a talajban a koncentrációkat, nem szabad elfelejteni, hogy a koncentráció önmagában nem sokat

mond. Döntő a környezetre való hatás, a veszélyeztetettség, amely a hasznosítás és a talajviszonyok függvénye. Tehát az analitikai adatok csak a termőhelyi tulajdonságok ismeretében értelmezhetők (Kádár 1998a).

Jelen doktori disszertációban leírt kutatások célja volt, hogy megvizsgáljuk:

- Az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet nagyhőrcsöki tartamkísérletében alkalmazott 13 nehézfémek és mikroelemek közül az általunk kiválasztott elemek (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn, Se) hét évvel a kijuttatásuk után miként befolyásolják a tesztállat – közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus* Henle, 1837 *Oligochaeta: Enchytraeidae*) – mortalitását és reprodukciós képességét?
- Amennyiben hatásuk kimutatható, az miben nyilvánul meg (gátló vagy serkentő)?
- Amennyiben egynél több elem esetében mutatható ki hatás, úgy az hét évvel a kijuttatást követően mely elem esetében a legjelentősebb?

A kísérletek eredményeinek értékelése alapján megtervezett további vizsgálatok célja volt megállapítani, hogy:

- Milyen hatással van a friss szennyezőként talajba juttatott szelén (Se), a korábban vizsgált paraméterekre, laboratóriumi körülmények között?
- Van-e hatáskülönbség a szelén talajban előforduló két felvehető formája, a szelenit és a szelenát között?
- A hatáskülönbségeket befolyásolják-e a különböző, mezőgazdaságilag művelt területekről származó talajok?

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A nehézfémek

2.1.1. A fémek talajba kerülése, az elemek csoportosítása

A talajok az alábbi főbb forrásokból tartalmazznak nehézfémeket (Lisk 1972):

- Talajképző kőzetek és ásványok fémtartalma.
- Műtrágyák és meszező anyagok szennyezettségüként, valamint peszticidek és szerves trágyák alkotóelemeiként, szennyvizek vagy szennyvíziszap szennyeződésüként a talajba jutó nehézfémek.
- Ipari és bányászati hulladékokból származó fémek, fosszilis energiahordozók égéstermékének, szélrózsió által talajrészecskékként, kísérleti atomrobbantásból, pollen, meteor, vulkáni tevékenység útján légtérbe került anyagok üledékének fémtartalma. A közlekedés nehézfém-szennyezése.
- Vízerózióval szállított talajrészecskék fémtartalma, illetve a talajvízben feloldott, vagy szuszpenzált fém-vegyületek, melyek a mozgó talajvízzel érkeztek. Öntözéssel kijuttatott nehézfémek.

A környezetre különösen káros elemek közül a következőket kíséri megkülönböztetett figyelem (Szabó és Nyilasi 1981):

- Nemfémek: Br, Se
- Félfémek: Al, As, B
- Másodfajú fémek: Ag, Cd, Cu, Hg, Pb, Zn
- Alkáli és alkáli földfémek: Cs, Na, Sr
- Átmeneti fémek: Co, Cr, Mn, Mo, Ni, V
- Lantanidák és aktanidák: U

2.1.2. A fémek biológiai szerepe, a felszívódás és a mérgezés hatásmechanizmusa

Az élővilágban számos olyan, az élő sejtekben végbemenő biológiai reakció, folyamat ismert, amelyek szabályozásában, elősegítésében fémionok játszanak fontos szerepet. Legegyszerűbb szerepük pozitív töltésüknek tulajdonítható, amely révén képesek a biológiai óriásmolekulák (például a fehérjék) negatív töltésű tagjaival reakcióba lépni. Ismertek fémek (Cu, Cr, Co Mo), melyek a katalízis-

ben és a transzport folyamatokban vesznek részt. Erre az teszi őket alkalmassá, hogy a környezetüktől függően különböző oxidációs állapotban tudnak megjelenni.

Az elemek és vegyületek mérgező hatásának vannak kémiai-, elektrokémiai- és sztereokémiai tényezői. Néhány nehézfém mérgező tulajdonsága a kéntartalmú biovegyületekkel (pl. enzimekkel és más fehérjékkel) való kölcsönhatásának tulajdonítható. A sok elektront tartalmazó nagy atomok erősen polárosak, így jól reagálnak más polarizálható atomokkal (Boros 1997).

- A legtöbb fém gátolja az enzimek működését. A Hg és a Cu könnyen be tud lépni az enzimek aktív helyeire.
- A Hg, Pb, Cu, Cd és Ag az alkáli foszfatáz, kataláz, xantin-oxidáz és ribonukleáz enzimeket gátolja.
- A nehézfémek katalizálhatnak metabolikus folyamatokat, így pl. lantán jelenlétében felgyorsul az ATP lebomlása.
- Egyes nehézfémek (Au, Cd, Cu, és FeII) reakcióba léphetnek sejtmembránokkal és megváltoztathatják áteresztő képességüket.
- Némely fémion más, esszenciális fémionnal versenyezhet, és azok szerepét átveheti.
- Bizonyos ionok, mint antimetabolitok szerepelhetnek, és elfoglalhatják az általában foszfátok, szulfátok vagy nitrátok által betöltött helyeket

Általánosságban elmondható továbbá, hogy az alkálifém és alkáliföldfém ionok könnyen oldódó sókat képeznek. A nehézfém kationok N és S atommal rendelkező ligandumokkal stabil kelát komplexeket képeznek. A fémek alkilvegyületei fokozottabban toxikusak, mivel a szervezetben jobban megkötődnek, mint a szerves formák (Csathó 1994).

2.1.3. Fémek a talajban és a táplálékláncban

Azotobacter chroococcum sejtuszpenzióval végzett kísérletekkel kimutatták, hogy a toxicitási határ általában magasabb a talajban, mint az egyes oldatokban. Ez a határ bizonyos elemeknél olyan magas is lehet, hogy az adott elem gyakorlatilag a talajban elveszti a toxicitását (Kádár 1995).

Annak érdekében, hogy egy táplálékláncba jutott elem mozgását nyomon követhessük, ismernünk kell:

- a talajtulajdonságokat,
- az elem talajhoz való kötődését, oldékonyságát,
- felvehetőségét az élőlények szempontjából,
- az elem élő szervezetekre gyakorolt hatását

2.1.4. A kísérletben vizsgált nehézfémek ismertetése

Kadmium (Cd)

Felhasználják, pl.: növényvédő szerek gyártásához, papírgyártáshoz, műtrágyagyártáshoz. A kadmium igen mérgező nehézfém, a természetben Cd^{2+} ionként, olykor szervetlen (Cl, F) vagy szerves ligandumokkal képzett komplexek formájában van jelen és a táplálékláncban is felhalmozódhat. Jellemző rá a nagy, de erősen pH-függő mozgékonyosság, savas talajban a Cd a legmobilisabb nehézfémek egyike. A foszforműtrágyák szennyezettsége különösen növelheti a talaj Cd tartalmát (Boros 1997).

A kadmiumot a szövetekben, a kénben gazdag, ezen belül szulfhidril-csoportot tartalmazó fehérjék kötik meg. A Cd zavarja a kalcium (Ca), a vas (Fe) és a réz (Cu) anyagcseréjét, a cinket (Zn) metallo-enzimekben helyettesíti. Szelén együttes adagolásával ugyanakkor állatkísérletekben megelőzhetőnek bizonyult a kadmium mérgezés, amelyet a Cd/Se komplexeknek tulajdonítanak.

Se hiányában azonban a Cd szerves savak sójaként, valamint fehérjékhez és más molekulákhoz kötve ártalmas lehet bármely fejlettségű élő szervezet anyagcseréjére. Biokoncentrációs tényezője a legtöbb szervezetben száz-as nagyságrendű, de egyes mikroszervezetekben elérheti az ezres nagyságrendet is (Csathó 1994).

Króm (Cr)

A króm különleges tulajdonságokkal rendelkezik, mivel vegyületeiben kétféle oxidációs állapotban, két különböző toxicitású formában fordul elő a természetben. Amíg a hatos oxidációs állapotú krómot tartalmazó anionok potenciális mérgek, addig a három vegyértékű kation esszenciális elem az emlősök számára. A króm modern ipari felhasználása rendkívül széleskörű, amely egyúttal nagy mennyiségű krómtartalmú termék megjelenését eredményezi a környezetben.

A króm nagymértékű felhasználása következtében a környezetbe jutó króm elsősorban az acélgyártás és fémfeldolgozás, valamint a különböző kromátok előállításából és alkalmazásából származik. A kromit feldolgozása, valamint a kis- és nagyüzemben végzett galvanizálás okozza a Cr(VI)-tartalmú vegyületek megjelenését a környezetben. A talajok krómterheléséhez hozzájárulnak az ipari és kommunális hulladékok (szennyvizek, szennyvíziszapok) nem megfelelő kezelése és talajon történő elhelyezése. A légkörben megjelenő antropogén eredetű króm forrásai a szén- és olajtüzeléses technikák alkalmazása, valamint a szennyvíziszapok égetése során keletkező szálló hamu levegőbe jutása, amelyek kiülepedésük során növelik a talajok krómmal való szennyezését (Szegevári 2005).

Réz (Cu)

Felhasználják, pl.: galvánüzemekben, takarmány kiegészítő premixekben, növényvédő szerekben, fémiparban (huzalgyártás). A réz táplálékláncban betöltött szerepét önállóan nem vizsgálták (ilyen adatot nem találtam), mivel körforgalma, hatása szorosan összefügg a molibdén (Mo) ellátottsággal. Nagy számú, elsősorban új-zélandi kutatás (Alloway 1968 és Healy et al. 1961) számol be a molibdén kedvező hatásairól, mind a gazdasági állatoknál, mind az embernél. Ugyanakkor felhívják a figyelmet, a molibdén túladagolás okozta molibdén-indukálta rézhiányra (Underwood 1962). Nagy humusz- és mésztartalmú síklápon tartott juhok esetében Tölgyesi (1969) számol be a takarmányok túlzott molibdén és alacsony réztartalmából következő szekunder rézhiányról. Az optimálisnak ítélt Cu/Mo arány 10/1.

Higany (Hg)

A talajok higanytartalma jórészt a talajképző kőzetekből, fungicidekből, bányászati tevékenységekből és fosszilis energiahordozók elégetéséből tevődik össze.

Szerves talajokon erősen kötődik, azonban ha a szennyezett talajhoz ként (S) adunk, gyengén oldódó Hg-szulfid képződik, amivel csökkenthető a toxikusság. A nagyhorcsóki kísérlet második évében végzett vizsgálatok tanúsága szerint nem lúgozódik, a szántott rétegben marad (Kádár 1995).

Vizsgálatok során könnyen elillanhat, illetve adszorbeálódhat. A Hg különféle formái – elemi fém, vízben oldható higany-só, szerves higanyvegyület – könnyen átalakulhatnak egymásba, ezért a talaj, a vizek és a levegő között folyamatos körforgást végez.

A mikroorganizmusok a higanyt rendkívül mérgező szerves fémvegyületté, metil-higannyá képesek átalakítani. E vegyületek lipofil tulajdonságúak, ezért képesek bizonyos élőlényekben (mikroorganizmusok, vízi növények, halak) nagy mennyiségben felhalmozódni, akkumulálódni. A metil-higany megtámadhatja a kéntartalmú aminosavakat, módosíthatja a fehérjék funkcióit, kromoszómatörést okozhat (Hay et al. 1963; Burstein és Sperling 1970; Brookens et al. 2007; Zhong et al. 2009).

Ólom (Pb)

Felhasználják, pl.: galvánüzemekben, fémgyártásban (ötvözetek, csővezetékek...), cserépgyártásban. Nagy mennyiségben képes a talajban akkumulálódni. Élettanilag a többi fémhez hasonlóan enzimgátló hatása van. Az egyes enzimekben jelenlévő aktív csoportokhoz (gyökökhöz) kötődik, így lelassítja, vagy teljesen megbénítja az adott enzim működését. Különösen erős hatása van az

ólomnak a tiol-csoportokat (szulfhidril, SH) tartalmazó enzimekre, mert ehhez a gyökhöz az ólom rendkívül erősen kötődik; az ólomnak az SH-gyökre vonatkozó stabilitási állandója 4,9.

Eddig még nem tisztázott biokémiai mechanizmusok következtében az agysejtekkel és az idegpályákkal lép kapcsolatba (Csathó 1994). Az ólom hat az ideg ingerlékenységre is, és előidézheti a simaizmok görcsös állapotát. Jelentős hatása van továbbá a reprodukciós képességekre is.

Az ólom élettani és biológiai hatásai közé tartozik, az egyes nyomelemekkel kapcsolatos kölcsönhatása is. Az ólom erősíti a rézhiány (Cu) hatását, zavarja a cink (Zn) tartalmú enzimek működését, ugyanakkor a cink adagolása csökkentheti az ólom toxicitását (Megyeri 1996).

Cink (Zn)

A világ fémfelhasználásában a cink a negyedik helyen található. Korróziógátlóként, ötvözetekben, galvanizáló fémként, kozmetikai termékek összetevőjeként, papírgyártásban, üveggyártásban, elemekben, a mezőgazdaságban mikroelem trágyaként, növényvédő szerként és még számos más területen alkalmazzák (Csathó 1994).

A mikroelemek közül a cink esszenciális voltát az elsők közül mutatták ki, mind a növények, az állatok és az ember vonatkozásában. Ennek ellenére az elmúlt évtizedben ezen elem iránt fokozottabb volt az érdeklődés, mint korábban bármikor. A kutatások fontosságát számos indok támasztja alá (Csathó 1994):

- A növények egyre nagyobb területen mutatnak Zn-hiányt, és mind a takarmányok, mind az élelmiszerek átlagos Zn-tartalma csökken.
- Egyre kevésbé általános a galvanizált fémek használata a vízvezetékek előállítására, így folyamatosan csökken a Zn az emberi szervezetbe történő felvételének lehetősége a víz útján.
- Az emberi táplálkozásban mind inkább terjednek a növényi fehérjeforrások. Ezen fehérjék Zn-tartalma azonban kevésbé felvehető, mind az állatok, mind az ember számára.
- A humán táplálék magasabb Zn-tartalma ellensúlyozhatja a szervezetbe kerülő kadmium kedvezőtlen hatását.

2.2. A szelén

A szelént 1817-ben fedezte fel Jons Jacob Berzelius svéd kémikus. A gripsholmi kénsavgyár munkásai között fellépő toxikus betegség okát vizsgálva, a kénsavas kád hulladékából végzett redukciós folyamatok vezették el az új elemhez, ami a görög holdistennő „Selene” után kapta a nevét (Vernie 1984). A periódusos rendszerben a kén (S) és a tellur (Te) között helyezkedik el. Gyakorisága alap-

ján az 54. helyet foglalja el a földkéreg elemei között (Kádár 1999). A természetben közel negyven, ritka szelénásvány fordul elő. Ezek közül a clausthalit (PbSe), a zorgit [(PbCu)Se], a nanmannit (Ag₂Se) és berzelianit (Cu₂Se) a legismertebbek. Mindezek ellenére a forgalomban lévő mintegy 1500t/év mennyiségű szelén szinte kizárólag szulfidos rézércek feldolgozása során képződő melléktermék (Anke et al. 2003).

A szelént mindenféle túlzás nélkül nevezhetjük a legérdekesebb mikroelemek egyikének. Egyidejűleg lehetnek rá igazak az egymásnak teljesen ellentmondó megállapítások. Mint mérgezést okozó elemet fedezték fel, de alig több mint száz év elteltével bebizonyosodott róla, hogy létfontosságú mikroelem (Schwarz és Foltz 1957), majd újabb néhány év elteltével, hogy rákellenes küzdelemben használható szer (Schroeder et al. 1970). A szelén megítélésével kapcsolatos változásokat, amely érintette, mind a biológia mind a mezőgazdaság tudományterületét rendkívül szemléletesen fejezi ki az 1. ábra.



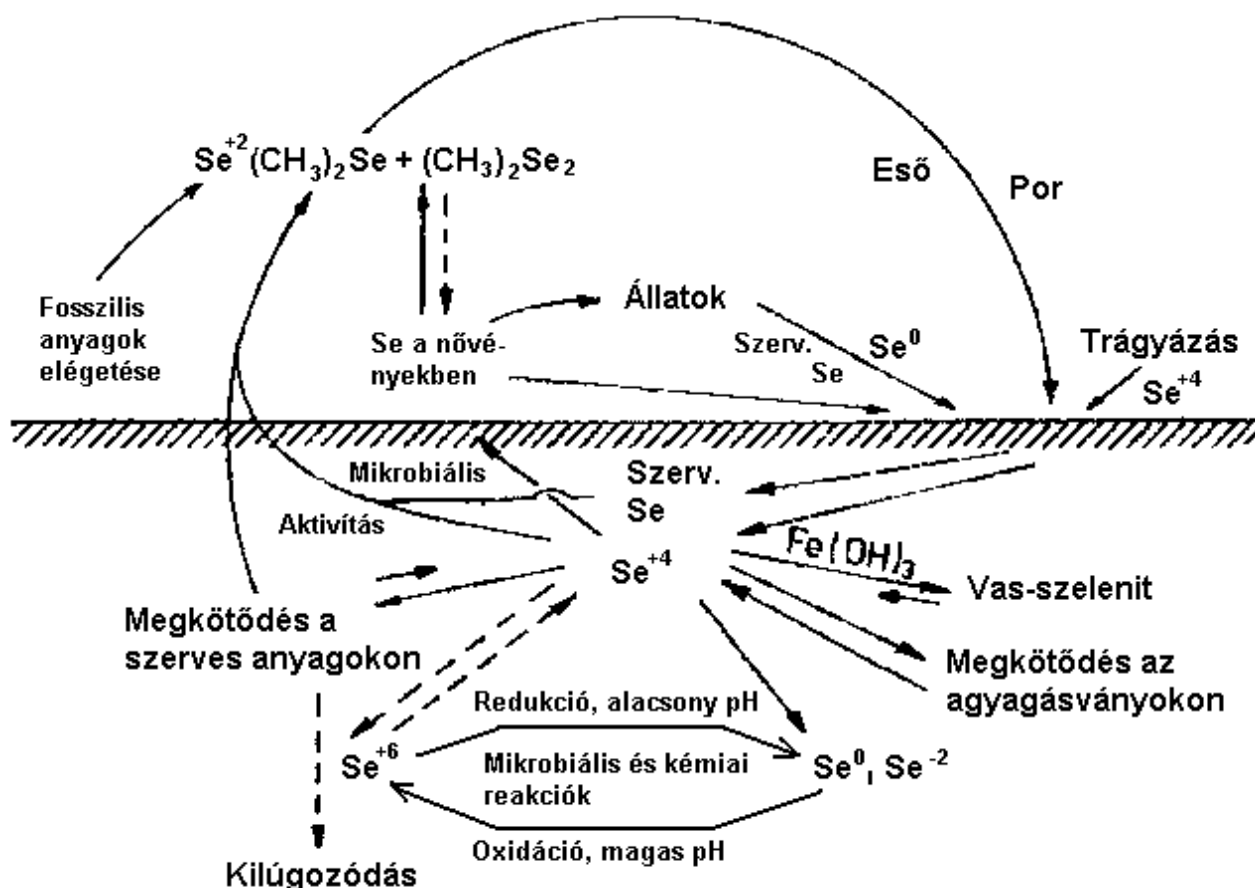
1. ábra: A Se különböző élettani hatásai (Pais 1998).

2.2.1. A szelén szerepe a talajban

A szelénnek alapvetően négy előfordulási formája ismert, a szelenid (Se²⁻), az elemi szelén, a szelenit (SeO₃²⁻) és a szelenát (SeO₄²⁻). A szelénvegyületek tulajdonságait elsősorban oxidációs állapotuk határozza meg. A -2 oxidációs számú szelenidek közül a hidrogén-szelenid rendkívül mérgező gáz, de levegőn gyorsan elbomlik elemi szelénre és vízre. A nehézfém szelenidek (higany, réz, kadmium) gyakorlatilag oldhatatlanok, így a növények számára felvehetetlenek. A +4 oxidációs fokú vegyületeket szeleniteknak nevezzük. Ezek vízdoldékonyak, a növények számára felvehetőek, mérgező hatásúak. Ugyanakkor redukáló szerek hatására gyorsan bomlanak elemi szelénre. A +6-os oxidációs fokkal rendelkező szelenátok oldhatósága, felvehetősége még egy nagyságrenddel jobb a növények számára, mint a szeleniteké. Alkalikus körülmények között stabilak (Hargitainé 1989).

A szelén mennyisége a felszíni édesvizekben és a tengerekben egyaránt átlagosan 0,2 mg/l, a litoszférában 0,05 mg/kg míg a talajokban 0,4 mg/kg. Ugyanakkor a talajok szeléntartalma nagyon tág

határok között mozoghat. Vannak olyan szelénhiányos talajok (pl.: Új-Zealandon) melyek szelén koncentrációja kisebb, mint 0,01 mg/kg, de találunk olyan területeket is (pl.: Írország, Mexikó, India, Pakisztán) ahol az átlagos szelén koncentráció 20-40 mg/kg. Jól látható azonban, hogy a litoszféra átlagosan mért szeléntartalmához képest a talajokban többnyire jelentős a szelén feldúsulás (Szabó et al. 1993; Vernie 1984; Kádár 1999; Hargitainé 1989). A szelénterhelés elsődleges forrásai között említhető a vulkáni tevékenység valamint az emberrel összefüggésben az ipar, a mezőgazdaság és a közlekedés. Irodalmi adatok szerint a szennyvíziszapokban 1-10 mg/kg, a foszforműtrágyákban akár 300 mg/kg, az istállótrágyákban 2-3 mg/kg szelén található. Elsősorban a barna szén és az olaj elégetésével 0,1-7mg/kg szelén kerülhet a levegőbe. (Allaway 1968; Lisk 1972; Hargitainé 1989, Szabó et al. 1993; Kádár 1999). A légköri dúsulás jelentős mértékeket ölthet. Iparvidékektől távoli területekről (Nigéria, É-Skandinávia) jeleztek 100-szoros légköri dúsulást. Európában általában nő a felszíni talajrétegek szelénkészlete (Kádár 1999). A szelén geokémiai körforgását teszi könnyen érthetővé a 2. ábra.



2. ábra: A szelén geokémiai körforgása Giessel-Nielsen (1977) nyomán

A talajok szeléntartalma alapvetően az anyaközet minőségétől függ. Ezen túlmenően elsődlegesen a talaj pH-ja, majd a redoxiviszonyok (pl.: a talaj levegőzöttsége) és a humusztartalom határozzák meg.

A savas pH-jú, gyengén levegőzött talajokban redukzív viszonyok uralkodnak. Ezekben a talajokban a rosszul oldódó, a növények számára gyakorlatilag felvehetetlen fémszelenidek a jellemzőek. Belőlük, az aerob körülmények fokozódásakor könnyen keletkezik teljesen oldhatatlan elemi szelén. Az ilyen talajok felvehető szeléntartalma tehát nagyon alacsony (Hargitainé 1989; Kádár 1999). A savas pH-jú de jól szellőzött aerob talajokban szelenitek képződnek. Csapadékos körülmények között a talaj vas- és alumínium oxidjai a talaj egy adott zónájában felhalmozódnak, a szelenit pedig hozzájuk kötődik. Ezek a fém-szelenitek nehezen oldódnak, így bár a talaj tartalmazhat egészen tekintélyes mennyiségű szelént, a felvehető elemtartalom alacsony marad (Oldfield 1987; Hargitainé 1989).

Lúgos pH és jól szellőzött talajviszonyok mellett jól oldódó szelenát forma keletkezik, amely kevés csapadék mellett nagy, akár toxikus mennyiségben is felhalmozódhat. Sok csapadék esetén a szelenát a feltalajból kimosódik és az alsó talajprofilokban halmozódhat fel (Oldfield 1987; Hargitainé 1989, Kádár és Németh 2003).

Az összes szeléntartalom magasabb a humuszban gazdag talajrétegekben, különösen rossz vízelvezetésű területeken, mint a szárazabb vagy kevesebb szerves anyagot tartalmazó területeken. Ugyanakkor azt is meg kell említeni, hogy a talaj szerves anyagához kötött szelén nem mobilis és leginkább csak egyes indikátor növényfajok számára felvehető. Ezek a növények azonban bomlásuk után kiváló szelénforrásként funkcionálnak. Egyértelműen bizonyítja ezt, hogy a bomló növényi részek szelénkészletének 50 %-át vízoldható formában mutatták ki (Kádár 1999). Szintén a talajok szeléntartalmát befolyásolja, hogy az oldható szelénvegyületek nagymértékben illékonyak. Megfelelő körülmények mellett a talajból erős fokhagyma- vagy retek szagot árasztva párolognak ki. Általánosságban elmondható hogy a termőföldek 1-2 mg/kg Se tartalomnál szennyezettnek minősülnek. A szennyezés mértéke 5 mg/kg felett közepes, 10 mg/kg felett pedig erősnek minősül.

2.2.2. A szelén és a növények

A szelén mennyisége a növényekben igen tág határok között mozoghat. Bár a szelén egy a növényi szövetekben előforduló enzim alkotórésze, arra nincs bizonyíték, hogy a növények számára esszenciális volna. Broyer et al. (1966) által végzett kísérletek azt mutatták, hogy az általuk vizsgált növények fejlődésükhöz nem igényelték a szelént. Vannak ugyan kis koncentrációjú szeléntartalmú tápoldatok növényekre – elsősorban keresztesvirágúakra, hüvelyesekre, fészkesekre – kifejtett stimulatív hatásáról irodalmi adatok, a növekedésgátlásban klorotikus tünetekben megnyilvánuló,

szelénfelesleg miatt bekövetkező toxicitás sokkal jobban ismert (Pais 1999). Ismertek azonban olyan szelénfelhalmozó növények, amelyek szelénben gazdag talajon akár 1000mg/kg-os nagyságrendben is képesek akkumulálni a szelént. Ezek a növények döntően az *Astragalus*, a *Haplopappus*, a *Machaeranthera* és a *Stanleya* nemzetségbe tartoznak és főként a legelőkön találhatóak (Vernie 1984, Clark és Combs 1986). A növények harmadik csoportját képezik a szelénkoncentrációt jól tűrő növények, amelyek azonban nem halmozzák fel szervezetükben a szelént. Szeléntartalmuk nagyjából a talaj szelénkoncentrációjához igazodik, annak változásait követi (Hargitainé 1989).

A szelén-akkumuláló, a nagy szelénkoncentrációt jól tűrő és az érzékeny növények a szelénnel szemben mutatott eltérő reakciójának oka még nem ismert minden vonatkozásban. Érdekes és elfogadható elméletnek tűnik, hogy a szelént akkumuláló ill. a szelén tűrő növények fehérjékhez kötik vagy fehérjékbe nem beépülő aminosavakhoz kapcsolják a szelént, ezzel akadályozva meg a mérgezés kialakulását (Kádár 1999). Brown és Shrift (1982) vizsgálatai azt mutatják, hogy szelént akkumuláló növényekben nagy mennyiségű metil-szeleno-cisztein és szeleno-cisztationin, fehérjébe nem beépülő aminosav izolálható. Ezek az aminosavak a nem akkumuláló növényekben nem, vagy csak nyomokban fordulnak elő.

Az eddig leírtak alapján is nagyon jól látszik, hogy a szelén növények általi felvehetőségében döntő szerepet játszik a talajképző kőzet szelénkoncentrációja, a talajban előforduló szelénvegyületek kémiai formája és oxidációs foka, a talajtípus, a pH, a humusztartalom és a csapadékviszony. Bisbjerg és Gissel-Nielsen (1969) illetve Gissel-Nielsen és Bisbjerg (1970) szerzőpáros nagyszabású tenyészedényes és szántóföldi kísérletekben vizsgálták a különböző szelénformák felvehetőségét, illetve a különböző talajtípusok szelén felvehetőséget befolyásoló hatását. A szerzők radioaktív indikációs mérés technikával határozták meg a felvett szelén (^{75}Se) mennyiségét, vizsgálva az elemi szelén mellett kilenc különböző vegyületformát. A kísérletek végén megállapították, hogy az elemi szelén gyakorlatilag felvehetetlen a növények számára. A szelenát formában adagolt szelénből viszont átlagosan nyolcszor nagyobb mennyiséget vettek fel a növények, mint a szelenit formában kijuttatottból. Mindkét forma esetében a felvehetőség fordítottan volt arányos a humusztartalommal. Savanyú és semleges pH-jú talajokban a szelén oldhatósága kicsi, felvehetősége rossz volt, mert ezekben a talajokban a szelén általában Fe(III)-szelenitként kötődött meg.

A talaj szeléntartalmának 25-szörös növekedése a szelenát esetében átlagosan 70-szeres, a szelenit esetében átlagosan 50-szeres szelénkoncentráció növekedést okozott a növényekben. A 0,1 mg/kg, a 0,5 mg/kg és a 2,5 mg/kg kijuttatott szelénmennyiség esetében jelentős termés-csökkenést egyik növényenél sem tapasztaltak. Megállapították továbbá, hogy sem a szelenitek, sem a szelenátok felvehetőségét a sók oldhatóságbeli különbségei nem befolyásolták. Eltérést csak az oxidációs fokok különbségei okoztak. A szelenátok felvétele és beépülése a növényi szövetekbe gyors és nagyon jó hatásfokú. Ennek köszönhetően azonban hamar elérheti a toxikus mértéket. Hatása azonban gyorsan

csökken. A szelén-dioxid vagy szelenit formájában adagolt szelénfelvehetősége kisebb, viszont hatás hosszabb ideig tart.

A növények alacsony szeléntartalma állat- és humánéletteni szempontból okozhat problémát. Az előzőekben azonban azt is láthattuk, hogy felelőtlenül nem kezdhetünk el szelént adagolni. Cary és Allaway (1973) adatai szerint 2,24 – 4,48 kg/ha nátrium-szelenit 4 évig elegendő nagyságú szelénszintet tudott fenntartani az állatok takarmányozására használt szemes takarmányokban. Gupta (1985) adatai szerint azonban 2-4 kg/ha szelénadag már szignifikánsan csökkenti a terméshozamot és jelentős mértékű szelénfeldúsuláshoz vezet a növényekben. Az is igaz hogy a kijuttatást követő évben már nem jelentkezett a termésnövekedés, valamint a terményben is az elfogadható szint alá csökkent a szeléntartalom.

2.2.3. A szelén és az állatok, a szelén és az ember

A szelén létfontosságát Schwarz és Foltz (1957) állapították meg, mikor kimutatták, hogy a nagy-tisztaságú kazein diétán tartott, táplálkozás eredetű májnekrozisban szenvedő patkányok gyógyításának régóta keresett harmadik faktora a szelén. Még ugyan ebben az évben kiderült, hogy az E-vitamin hiányában a csirkéknél fellépő exudatív diatézis, amely bőr alatti vérzéssel, növekedési depresszióval valamint nagyfokú elhullással jár, szintén gyógyítható szelén adagolással (Scott et al. 1957). Táplálkozás eredetű izomdisztrófia vagy fehérizom-betegség szinte valamennyi állatfajnál felléphet, de jellemző módon elsősorban borjaknál, malacoknál és bárányoknál jelentkezik. A betegség megjelenése spontán történik egyes egyedeknél, anélkül hogy a teljes állatállomány megbetegedne. Szelénhiányos táplálás következményeként a vázizomzat degenerálódása bénulásokhoz és a kalciumnak az izomrostokban való lerakódásához vezethet, amitől az izomállomány fehérszínű lesz. Innen a betegség elnevezése. A bénulás a szívizomra is áttérjedhet és elsősorban sertésnél, hirtelen bekövetkező szívhalált okozhat (Szabó et al. 1993). Természetes nem csak a szelén hiánya okozhat gondot, bár ennek előfordulása jóval gyakoribb, de túladagolása következtében fellépő tünetegyüttesek is ismertek. A szelenózis, azaz a szelén felesleg okozta mérgezést jóval az elem felfedezése előtt leírták, de csak 1933-ban tudták a kiváltó okot beazonosítani. Szelénmérgezés hatására a fedőszőrök, tollak fakulnak, a pata, csülök begyullad, súlyos esetben leesik. Krónikus mérgezés esetén központi idegrendszeri zavarok, bénulás, nyelési nehézségek lépnek fel, aminek következtében az állatok akár éhen is halhatnak (Anke et al. 2003). Haszonállatoknál a szelénhiányos tünetegyüttes általában akkor alakul ki, amikor a takarmány szárazanyagra számítva 0,1 mg/kg szelénnél kevesebbet tartalmaz. Ugyanakkor az 1 mg/kg-ot meghaladó szelénkoncentráció már toxikus hatású (Szabó et al. 1993). Nagyon jól látható tehát, hogy a fiziológiai minimum szükséglet és a már toxikus koncentráció közötti intervallum igen szűk.

A szelén legalább ilyen fontos szerepet tölt be humán vonatkozásban. 1907-ben Kínában a Keshan régióban írták le a régióról elnevezett Keshan-kórt, ami a legkorábbról ismert szelén hiánybetegség az embernél. Elsősorban 10 évesnél fiatalabb gyerekeken és terhes anyákon jelentkezett. Hosszú, 2-6 hónapig tartó lappangási idő után jelentkező akut tünetek (súlyos szívizomgyulladás, tüdőödéma) 1-2 napon belül halált okoztak (Anke et al. 2003). A betegség, bár szelén adagolással gyógyítható, mégsem magyarázható egyértelműen a szelén hiányával. Hiszen nehezen magyarázható, hogy Finnország és Svédország hasonlóan alacsony szelén ellátottságú területein a betegség nem jelentkezett. További érdekessége a betegségnek, hogy azokon a területeken ahol jelen van, nagyfokú szezonális ingadozást mutat. A déli területeken nyáron, az északi területeken télen gyakoribb (Szabó et al. 1993; Diplock 1987; Girgling 1984; Oldfield 1987). Szelénmérgezés emberben csak szakszerűtlenül adagolt táplálék-kiegészítő alkalmazásakor, vagy nagyon extrém esetben néhány napig magas szeléntartalmú táplálék fogyasztás kapcsán fordulhat elő. Tünetei a haj és a körmök elvesztése, bőrbántalmak, hányás-hasmenés, fokhagymaszagú lehelet és izzadság, idegrendszeri zavarok (Yang et al. 1988).

Addig, amíg a növények, a magasabb rendű gerinces állatok, vagy az ember vonatkozásában rengeteg információval rendelkezünk a szelén különböző hatásairól, pótlásának lehetőségéről vagy akár a talajban lejátszódó biokémiai folyamatokról, gyakorlatilag nincs információnk a szelénnek a talaj életet biztosító, alacsonyabb rendű, talajlakó gerinctelenekre gyakorolt hatásáról. Fischer és Koszorus (1992) *Eisenia fetida* egyedeken Jensen et al. (2005) *Megaselia scalaris* lárvákon vizsgálta a szelenit és szelenát hatásának különbségét. Mindkét esetben azt az eredményt kapták, hogy a szelenát lényegesen toxikusabb, mint a szelenit. Nincs azonban adat arról, hogy különböző szelén felvehetőséget befolyásoló tényezőket vizsgáltak-e. Bakonyi et al. (2003) szabadföldi kísérletekben *Nematoda* együtteseken, Somogyi et al. (2004) *Enchytraeus albidus* egyedeken, természetes talajon, de laboratóriumi körülmények között Na-szelenit hatását vizsgálta. Az eredmények mindkét esetben dózisfüggő gátló hatást mutattak. Ezek a vizsgálatok egy adott talajon egy szelénformával történtek. Nincs összehasonlítási lehetőség más szelénformákkal, ill. különböző talajparaméterekkel. Az eddig rendelkezésünkre álló adatok nem elegendőek, hogy bármiféle általános következtetést vonjunk le belőlük, további vizsgálatok, kísérletek elvégzése indokolt.

Összefoglalva megállapítható, hogy szennyezéskor a szelén extrém módon dúsulhat fel a növényekben, majd azt követően a növényevő állati szervezetben. A szakszerűtlen szelén-adagolás könnyen vezethet a talaj, a növény, az állat és végső soron az ember mérgezéséhez. További sokoldalú vizsgálatok szükségesek a szelén táplálékláncban betöltött szerepének feltárásához (Kádár 1998b).

2.2.4. A szelén Magyarországon

Magyarországon az elmúlt évtizedekben több átfogónak tekinthető talajvizsgálat történt a szeléntartalom meghatározásra.

A folyók ártereinek üledékeit és 50 jellegzetes talajszelvényt vizsgálva Gondi (1991) a következő eredményekről számol be. A minták 90 %-ban a Se 0,1 mg/kg alatti értékeket mutat. Különösen a rhiolt-tufák, a mészkövek, homokkő és a homokos üledékek rendelkeznek alacsony szelénkoncentrációval. Magasabb szeléntartalom a szulfid mineralizációs területeket jellemezte.

A Budapesti Fővárosi Növényegészségügyi és Talajvédelmi Állomás, a német Környezetvédelmi Minisztérium szakembereivel 40 különböző termőhely talajait vizsgálta hazai természetvédelmi területeken. Az általános koncentrációt 0,03 – 2 mg/kg értékek között találták, de a Bükk térségében kiugróan magas 4 – 5 mg/kg-os értékek is előfordultak (Kádár 1998b). Mind a geokémiai mind a környezetvédelmi célú mérések a talajok és a kőzetek összes szeléntartalmának meghatározására irányultak királyvizes ill. $\text{cCHNO}_3 + \text{cCH}_2\text{O}_2$ kioldást alkalmazva.

Az 1970-es évek közepén a FAO kezdeményezésére egységes talaj- és növény-mintavételre került sor 30 ország részvételével. A minták elemzését a finn talajtani intézet laboratóriumában végezték. Magyarországon 250 termőhelyet, 106 kukorica és 144 búzatóblát mintáztak meg. A vizsgálatok eredményeképpen kiderült, hogy a magyarországi termőföldek talajai a nemzetközi átlaggal egyező „felvehető”, azaz NH_4 -acetát+EDTA oldható szelénkoncentrációval rendelkeznek. A talaj- és növényvizsgálatok együttes értékelés kimutatta, hogy hazánk talajainak 20 %-a kevés, míg a fennmaradó 80 % megfelelő szelén-ellátottsággal rendelkezik. Ezek az értékek azonban a nemzetközi átlaghoz való relatív viszonyt és nem az élettani optimumokat jelentik (Kádár 1998b).

A hazai talajvédelmi és információs monitoring rendszer keretén belül 1000 mintavételi helyet elemeztek, az ország minden körzetére kiterjedően. A talajok NH_4 -acetát+EDTA oldható szeléntartalma a szántott rétegben átlagosan 0,39 mg/kg volt. A minták közel egyharmadában 0,1 mg/kg alatti, viszont valamivel több mint 10 %-ban 1 mg/kg feletti értékeket találtak. A vizsgálatok során több talajparamétert is figyelembe vettek. Megállapították, hogy a humusztartalom és a kötöttség nem, viszont a pH és a CaCO_3 tartalom növekedése összefüggést mutat a talajok magasabb szelén készletével (Patócs 1990).

Összefoglalva a hazai geokémiai, talajtani és környezetvédelmi célú felméréseket megállapíthatjuk, hogy egyaránt rendelkezünk szelénben szegény és gazdag termőhelyekkel. A szelénhiányos területek hazánkban elsősorban a savanyú területekhez kötődnek, viszont a pH növekedésével a szeléntartalom a többszörösére növekszik.

2.3. Talajlakó állatok, mint tesztszervezetek

A vegyi anyagok okozta környezetterhelés, különösen a potenciálisan mérgező mikroelemek és nehézfémek okozta környezetszennyezés meghatározó egészségügyi, biológiai, ökológiai jelentőséggel bír. Ennek oka, hogy ezek az elemek biológiailag nem, vagy csak hosszú idő alatt, bonyolult biokémiai mechanizmusok révén bonthatók le, ezért az élő szervezetekben felhalmozódhatnak, további reakcióik eredményeként toxikus tüneteket okozhatnak. A nyersanyag-kitermelés, az energia-előállítás és egyéb antropogén folyamatok igen jelentős mértékben járultak, járulnak hozzá a mikroelem és nehézfémek mobilizációjához és eredményezik, hogy ezeknek az anyagoknak a környezetben való megjelenésük, felhalmozódásuk ma túlnyomóan emberi eredetű.

Mindezek következményeként előtérbe kerültek az olyan elemekkel (pl.: Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Se, Zn) kapcsolatos kutatások, melyekről nyilvánvalóvá vált, hogy a biogeokémiai folyamatokban jellemző kölcsönhatásaik révén jelentős környezeti kockázatot képviselhetnek (Csathó 1994; Heck et al. 1995; Didden és Römbke 2001; Somogyi et al. 2005; Somogyi et al. 2012). Az ökotoxikológiai vizsgálatok két szinten folyhatnak: vagy az egyes fajok populációinak vagy az ökoszisztéma egészének válaszait vizsgálják. Mindegy azonban melyik szintet vizsgáljuk, az alkalmas és használható ökotoxikológiai teszteknek olyan technikai megoldásokat kell tartalmazni melyek segítségével rövid idő alatt jelezhetőek a vizsgált közösségben bekövetkező változások (Lisóczkiné 2009). A vizsgálandó szennyező komponensek hatásait talajállatokkal végzett ökotoxikológiai tesztekben alapvetően két paraméter befolyásolja (Bakonyi et al. 2009):

- a vizsgált talaj típusa;
- a vizsgált testállat.

Talajtípusok hatásai

A szennyező anyagok hatásai a talajban másképpen érvényesülnek, mint a föld feletti és a vízi élőhelyeken, hiszen a talaj fizikai és kémiai struktúrája is jelentősen eltér az említett másik két élőhelytől. A legnagyobb különbséget pedig az jelenti, hogy a direkt hatásokon kívül számos indirekt, a talaj különböző komponensein keresztül érvényesülő hatással kell számolni. A talajba kerülő szennyezőanyag ugyanis rendszerint nem közvetlenül kerül kapcsolatba az állatokkal, hanem először a talajvízben oldódik, majd megkötődik a talaj szerves, szervesetlen anyagainak felszínén és/vagy a talaj levegőbe adszorbeál. Mindeközben megváltozhat mind a szennyező anyag tulajdonsága, így a hatása is, de jelentősen befolyásolhatja a talaj kémiai összetételét (Bakonyi et al. 2009).

A talajok olyan nagymértékben különböznek egymástól a kémiai, fizikai és biológiai tulajdonságaikat tekintve, hogy az ökotoxikológiai hatásokat döntően befolyásolják. A nehézfémek, illetve mikroelemek tesztelés során figyelembe kell venni, hogy a talajoldatban levő ionok a testfelületen és a

bélcsatornán keresztül is gyakorolhatnak hatást. A két felvételi út eltérő és a felvételi mechanizmusok is mások. A makrofauna tagjai, és bizonyos mértékben a mezofauna egyes fajai is (pl.: ugróvilások, atkák) jelentős mennyiségű nehézfémot vehetnek fel a táplálékkal. Ekkor a pórusvízben oldott nehézfémek hatása mellett a táplálékkal felvett mennyiség is jelentős lehet. Ugyanakkor a táplálékban található nehézfém ionok felvételét jelentősen befolyásolják az emésztőenzimek és a bélben lakó mikroorganizmusok, amelyek a kötötten lévő ionok egy kisebb-nagyobb részét felvehető formába transzformálják. A bél falán történő felvételi mechanizmusok csak ez után játszanak szerepet. A mikrofauna (egysejtűek, fonálféreg) esetében a pórusvízben található nehézfém koncentráció az elsődleges. Itt a kültakarón történő felvétel az ionok felvételének fő útja. A szennyező anyagok egészen másképpen hatnak, ha a talaj szerves, vagy szervetlen anyagain kötődtek meg, ha a talajvízben (pórusvíz) találhatóak, vagy ha a talaj levegőjében vannak (Bakonyi et al. 2009).

Különböző teszttálatokra gyakorolt hatások

A különböző szennyező anyagok hatásai által indukált állati reakciókra általános szabályt nem lehet felállítani. Előfordulhat, hogy két, rendszertani szempontból közeli rokon faj egészen különböző módon reagál ugyanarra az anyagra, míg más esetekben viszonylag távoli rendszertani csoportokba tartozó fajok hasonló reakciót mutathatnak azonos környezetszennyezőkre. Nem hagyható figyelmen kívül az a tény sem, hogy egy adott állatfaj érzékenysége a toxikus anyagokkal szemben függ az életkortól, illetve a fejlettségi állapottól is. Meglehetősen általános jelenség, hogy a fiatal állatok rendszerint érzékenyebbek ezekre a hatásokra, mint a kifejlettek (Bakonyi et al. 2009).

2.3.1. A vizsgálati módszerek fejlődése, lehetséges új irányok az ökotoxikológiában

A biomarkerek keresése folyamatos feladat, hiszen mindig egyszerűbben és olcsóbban kimutatható eljárásokra van szükség, amely a populációkra, társulásokra gyakorolt hosszú távú toxikus hatásokat is jelzi. A környezet állapotának monitorozásában alkalmazott indikátoroknak alkalmasnak kell lenniük arra, hogy jelezzék az ökoszisztéma folyamatiban, szerkezetében bekövetkező strukturális és funkcionális változásokat, érzékenynek kell lenniük a környezetgazdálkodásban és a klímában bekövetkező változásokra. Könnyen mérhetőnek, reprodukálhatónak, és mind helyi, mind nemzetközi szinten alkalmazhatónak kell lenniük.

A fentieket figyelembe véve alábbiakban az ökotoxiko-genomika, az élettáblázat analízis és a Szabadföldi Modell Ökoszisztéma vizsgálatot, mint figyelmet érdemlő új módszert próbálom röviden bemutatni. Itt nem részleteztem, további lehetséges – előrehaladott alkalmazási stádiumban lévő – módszereket (pl.: magatartás tesztek, ERT, bioakkumulációs tesztek) a közönséges televényféreggel (*Enchytraeus albidus*) foglalkozó fejezetben részletesebben is ismertetek.

Ökotoxiko-genomika

Egyfajta, interdiszciplináris tudományterületek, mint a genom és a gének kölcsönhatásait vizsgáló genomtan valamint a biológiai problémák informatikai leírásával foglalkozó bioinformatika, illetve az ökológia tudomány együttműködése révén született meg az ökotoxiko-genomika tudománya. Kialakulásával a környezetszennyezés biológiai hatásainak értékelése kapott, kaphat új lendületet. Alapötlete, hogy egy stresszes állapothoz való alkalmazkodás egyik legelső lépése a génkifejeződés, a genom változása. Egy környezetszennyezés által indukált változó viszonyok között fenntartani a homeosztázist, az anyagcsere folyamatokat működtetni, folyamatos alkalmazkodást igényel, amely alkalmazkodást a genom illetve annak változásai bizonyára tükrözni fognak. Transzkripció és metabolit elemzés hatékony módja annak, hogy élettani változások nyomán felfedje a környezetszennyezést. A földigilisztákon (*L. rubellus*, *E. fetida*) végzett (ólom, kadmium, egy PAH vegyület „fluoranthene”, egy gyomirtószer „atrazin” és TNT) vizsgálatok valamennyi szennyező esetében RNS-szintézis zavarokat (transzkripció zavar) mutattak ki. Kimutatták továbbá, hogy a szennyeződések típusai különbözőképpen befolyásolják a transzkripciót és az anyagcserét (Van Straalen és Roelofs, 2008). Hasonló eredményeket – fokozott lipidperoxidáció jelezte oxidatív károsodást és reprodukciós zavarokat – mutattak ki portugál kutatók közönséges televényféreg (*E. albidus*) esetében cink és kadmium kitétségek vizsgálata során (Novais et al. 2011).

Amorim et al. 2011-ben publikálta azt a cikket melyben a közönséges televényféreg (*E. albidus*) segítségével keresték a szervezet molekuláris szintű válaszait a különböző kémiai stresszorokra. A vizsgálatok kimutatták a koncentrációfüggő polimeráz láncreakciókat. Ezek a molekuláris szintű válaszok összeegyeztethetőek voltak a stresszorok által kiváltott reprodukciós változásokkal. A vizsgálat kimutatta, hogy a különböző típusú vizsgálati módszerek végpontjainak integrációja javíthatja az értékelési folyamatot, növelheti a stresszorok hatásmechanizmusának megértését.

A fent említett példák és egyéb, hasonló eredmények alapján a molekuláris módszerek reményt kínálnak arra, hogy a hagyományos ökotoxikológiai teszteknel gyorsabb, érzékenyebb, hatóanyag-specifikus, olcsóbb és informatívabb eljárások kerüljenek kifejlesztésre. Ezért ez a terület pillanatnyilag dinamikus fejlődik (Bakonyi et al. 2009).

Élettábla analízis

Ezt a viszonylag egyszerű eljárást, már az 1900-as évek elejétől elterjedten használják a populáció-ökológiai vizsgálatokban (Forbes et al. 2010). Az eljárás alkalmazása számos populációs paraméter vizsgálatát, kiszámítását teszi lehetővé. Különösen jól alkalmazható, ígéretes – bár nem egyszerű – módszernek tűnik azokban az esetekben, mikor a tesztállatot természetes közegében kívánjuk valamely külső (antropogén) behatásra tanulmányozni, miközben számos egyéb stresszorok (paraziták,

ragadózó, korábbi behatások) fejtik ki hatásukat, befolyásolva ezzel a vizsgálni kívánt élőlény populációs paramétereiben bekövetkező változásokat (Bakonyi et al. 2009; Jansen et al. 2011).

Szabadszíri modell ökoszisztéma

A szennyező anyagok ökotoxikológiai vizsgálatait legtöbbször egy fajra kidolgozott tesztek alapján végzik. Ezekkel azonban nem lehet a közösségi, vagy ennél magasabb szintű hatásokat kimutatni. A szabadszíri vizsgálatok eredményei igen szórnak, a sztenderdizálás és az ismételhetőség komoly problémát okoz (Nagy 1999). Többféle törekvés van a probléma megoldására, melyek közül a legígéretesebb egy viszonylag bonyolult, de ökotoxikológiai szempontból releváns eljárás, amit Szabadszíri Modell Ökoszisztémának (Terrestrial Model Ecosystem) neveznek. Az eljárás lényege, hogy viszonylag nagy térfogatú (pl. 17,5×40 cm) talajmintákat vesznek megtartva az eredeti talajstruktúrát, növényzetet és állatvilágot, amiket azután kontrollált körülmények közé, fitotronba helyeznek. Itt inkubálják tovább, locsolják, majd a csurgalékvizet összegyűjtik, elemzik. A szennyező anyagok hatásainak vizsgálatára különböző végpontokat (C, N, P, K, S a talajban és a csurgalékvízben, mikrobiális biomassza, celluláz és dehidrogenáz enzimaktivitás, talajállatok denzitása és táplálkozási aktivitása, dekompozíció, növényi biomassza stb.) mérnek egyidejűleg. A társulások szerkezeti változásait egy, direkt erre a célra kifejlesztett statisztikai eljárás, az elsődleges válaszcörbe (Principal Response Curves) analízis alapján végzik. Az eljárás előnye hogy az eredmények aránylag egyszerűen interpretálhatók és az időbeli változásokat a fajok és a társulás szintjén is világosan mutatják. Fontos szempont továbbá, hogy statisztikai szignifikancia számításra is lehetőséget ad a módszer (Bakonyi et al. 2009).

Az ökotoxikológiában használt módszereket elsősorban a toxikológiából vették át. Ezeket gyógyszer, növényvédő szerek, nehézfémek, szerves szennyezők és hasonló anyagok tesztelésére fejlesztették ki. Napjainkban azonban két területen is jelentős változásoknak vagyunk tanúi a talajállatok ökotoxikológiájával kapcsolatban.

Az első ilyen terület a genetikailag módosított szántóföldi növények termesztésének problémája. Ezek a növények tenyészidejük teljes ideje alatt termelik, és a gyökérváladékkal együtt a talajba juttatják azt a toxint, aminek előállítására képtessé tették. A toxin egy része a talajban és a betakarítás után a talajba kerülő tarlómaradványokban is hosszú ideig megmarad. Gyakran a technológiai előírásoknak megfelelően rendszeres herbicid kezelésnek teszik ki ezeket a talajokat. Mindezek következtében a hatások komplexek, ezért új szemléletet, új vizsgálati, tesztelési módszerek kifejlesztését teszik szükségessé.

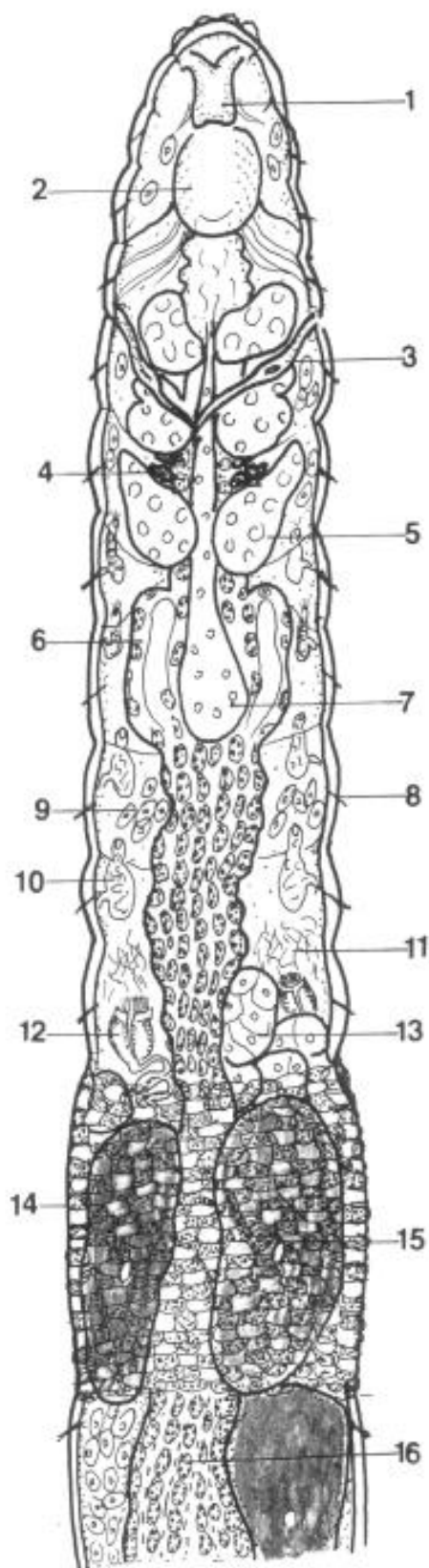
A második terület még az előzőnél is kevésbé ismert. A nanotechnológiával előállított termékek száma és köre rohamléptekkel nő. A talajállatokra gyakorolt mellékhatásairól azonban adatok alig állnak rendelkezésre. Ezen a területen különösen fontos szempont, hogy az előállított anyagok köre, azok fiziko-kémiai tulajdonságai igen változatosak (Bakonyi et al. 2009).

2.4. A közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus* Henle, 1837)

2.4.1. A televényférgek biológiája

A televényférgek a gyűrűsférgek (*Annelida*) törzsébe, a nyeregképzők (*Clitellata*) osztályába, a kevéssertéjű gyűrűsférgek (*Oligochaeta*) alosztályába tartoznak (Dózsa-Farkas 2002). Közép-Európában a televényféreg fajok száma valószínűleg 200–300 között van. Ezek körülbelül 20 nembe sorolhatók. Sok fajnál és nemnél azonban égetően szükséges a felülvizsgálat. Ezeket gyakran igen csekély morfológiai különbségek alapján minősítették önálló fajjá Nielsen és Christensen (1959) monográfiája szerint. Valószínűleg azonban ezek a taxonómiai problémák (Westheide és Schmelz 1997) a biokémiai és a genetikai módszerek elterjedésével oldódhatnak meg. A televényférgek általános testfelépítését a 3. ábra szemlélteti.

Leggyakrabban fehér vagy fehéres színűek, mivel a fajok zöménél nem találunk pigmentet a kültakaróban. Ritkán, ha testfolyadékuk színanyagokat is tartalmaz sárgás, rózsaszínes vagy éppen zöldes színt vehetnek fel. Az európai fajok testhosszúsága jellemzően 1,5 – 45 mm, testszélességük általában 0,09 – 1,20 mm között ingadozik. A szelvények száma a kifejlett (adult) állatoknál 14 és 90 között változik. A kisebb fajok többnyire 25 – 30, a közepes, ill. nagy testű fajok 35 – 60 szelvényvel rendelkeznek. A frissen kelt (juvenil) állatoknak kb. 10 szelvényük van. Meg kell említeni ugyanakkor, hogy alaszékában élő fajok testhossza akár a 10 cm-t, szelvényei száma a 100-at is elérheti. A serték kötegekbe, sertecsomókba rendeződve található az állatokon. Általában négy köteg szelvényenként. Kettő helyezkedik el hasirányba (ventrálisan), kettő pedig oldalsó (laterális) irányba. Az oldalsó (laterális) csomókat gyakran nevezik háti (dorsalis) sertéknek. Többnyire hímnősek, ivaroson szaporodnak, de kisebb részben képesek fragmentálódni. Az egyedfejlődés sebessége több tényező mellett elsősorban a hőmérséklettől függ: tarthat akár néhány héttől fél évig is. Laboratóriumban akár 300 napig is élhetnek (Chalupský 1991; Dózsa-Farkas 2002).



3. ábra: *Henlea perpusilla* testfelépítésének vázlata. (1: agydúc, 2: garat, 3: spermatheca, 4: oesophagealis diverticulum, 5: septális (oesophageális) mirigyek, 6: intestinalis diverticulum, 7: háti edény eredése, 8: laterális serték, 9: lymphocyták, 10: nephridium, 11: spermiumok a test-üregben szabadon, 12: sperma-tölcsér, 13: éretlen peték, 14: nyereg, 15: érett pete, 16: chloragogén sejtek a bélen. (Dózsa-Farkas 2002)

Emberi behatásoktól mentes területeken, a négyzetméterenkénti átlagos televényféreg szám 20 ezer és 60 ezer közötti. Átlagos biomasszájuk 0,4 – 1,2 g száraz tömeg/m². Savanyú talajon ezek a számok gyakran magasabbak, mint semleges pH mellett. A televényférgek különböző élőhelyeken található egyedsűrűségéről ad felvilágosítást az 1. táblázat. Az *Enchytraeus albidus* számára az optimális talajkémhatás pH = 6 (Kurt, 1961). Több tényező, közöttük a talaj szervesanyag- és nedveségtartalma befolyásolja előfordulásukat és reakciójukat az őket érő stresszfaktorokra (Jänsch és Römbke 2003).

1. táblázat: A televényférgek átlagos sűrűsége néhány élőhelyen, a legjellemzőbb abiotikus tényezőkkel együtt feltüntetve Didden (1993) nyomán

Élőhely	Ország	Csapadék (mm)	Levegő hőm. (°C)	pH	Sűrűség (egyed/m ²)
Füves terület					
Sás rét	Alaszka	170	-12,2	4,9 - 5,4	46100
Havasi rét	Ausztrália	2160	3,3	4,3 - 4,9	3250
Trópusi	India	1150	29,8	6,6	3800
Természetes	Kanada	341	3,6	7,5	30000
Öntözött	Kanada	341	3,6	7,5	39000
Legeltetett	Ausztrália	750	14,3	5,5	2600
Vizes élőhely					
Tőzeg	Anglia	780	5,6	4,4 - 4,7	14500
Mocsár	Anglia	780	5,6	4,4 - 5,0	40000
Erdő					
Lombhullató, nedves	Finnország	596	3,8	5,1	5700
Lombhullató, száraz	Finnország	596	3,8	5,4	8000
Lombhullató, tölgy	Magyarország	627	11,1	-	18000
Lombhullató, tölgy-gyertyán	Magyarország	643	9,9	-	22000
Vegyes, fenyő-tölgy	Németország	597	-	3,5	42000
Tülevelű, fenyő	Németország	597	-	3,3	81000
Művelt terület					
Rozs	Lengyelország	533	8,0	6,1 - 6,5	9800
Burgonya	Lengyelország	533	8,0	6,1 - 6,5	13000
Lucerna	Lengyelország	533	8,0	6,1 - 6,5	5700
Cukorrépa	Lengyelország	533	8,0	6,1 - 6,5	9600
Őszi búza	Hollandia	725	8,4	7,5	12000
Árpa	Svédország	520	5,4	6,3	8100

Az *Enchytraeus* nembe tartozó fajok jellemzően emberi zavarásnak kitett helyeken élnek (pl. utak mentén), könnyen tenyészthetők és kereskedelmi célú felhasználásuk is ismert, mint haleleség. A közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*), kétséget kizáróan elkülöníthető a többi *Enchytraeus* fajtól, jellegzetes belső szervei alapján (Nielsen és Christensen 1959). Ökológiai igényei jól ismertek (Ivleva 1953a, b, c; Ivleva 1960; Kurt 1961). Gyors az egyedfejlődésük, különböző anyagokon (természetes talaj, OECD talaj, agar) tarthatók, változatosan etethetők és mindhárom vizsgálati szinten (laboratórium, félszabadföldi, szabadföldi) alkalmazhatók (Römbke et al. 1994). Az *Enchytraeus* fajok partenogenetikusan, vagy önmegtermékenyítéssel szaporodnak. Ennek gyakran következménye, hogy az egyes, sokszor egy-egy egyedből létrejövő populációk kis mértékben

eltérnek egymástól, így sokszor nehezen azonosíthatóak. Ezért említhetünk számos kisebb *Enchytraeus* fajt (*E. crypticus*, *E. buchholzi*, *E. luxuriosus* és *E. bulbosus*) „*Enchytraeus buchholzi*-komplex”-ként, mely egyedeinek azonosításában, sok esetben csak a molekuláris biológiai módszerek segíthetnek. Ezért a toxikológiai tesztekben való alkalmazásuk nagyfokú körültekintést igényel. Ugyanakkor viszont laboratóriumokban létrehozott tiszta tenyészetek használhatóak tesztállatként (pl.: *E. crypticus*), mert gyorsabban szaporodnak, mint a közönséges televénykéreg és a kisebb állat-nagyobb felület alapon bizonyos elemek jobban akkumulálódhatnak bennük (Castro Ferreira et al. 2012; González et al. 2011).

2.4.2. Nehézfémek hatása a televényféregre

Egyre jobban megismerve a televényféreg biológiáját, az ökoszisztémában betöltött szerepüket, alkalmassá váltak arra, hogy ökológiai problémák monitorozására, kísérletes bemutatására használják a televényféregket. Ez történt Svédországban, ahol a savas eső okozta hatásokat vizsgálta Abrahamsen (1983). A múlt század végén előtérbe kerültek a nehézfém-szennyezéseknek a talaj élővilágára gyakorolt hatásainak a vizsgálata, amikben a televényféregnek, alkalmas tesztállatként, jelentős szerepük volt, van.

Az egyes televényféreg fajok fémekre való érzékenységét több esetben megfigyelték laboratóriumban és szabadföldön egyaránt. Egy fontos nézőpont a fémek televényféregre kifejtett hatásánál a detoxifikációs hatás, mely fémenként és fajonként eltérő lehet. Némely fémek felhalmozódhatnak az állatokban a protein komplex képződés során, melyet azután a védekező öncsonkítással kivethet magából, másoknál ugyanez a mechanizmus nem figyelhető meg (Didden és Römbke 2001). Roth (1993) megfigyelte a Pb felhalmozódást tülevelű erdő talajában élő állatoknál, és a legmagasabb koncentrációt a *C. spaghnetorum* esetében észlelte, mely biokoncentrációs faktora (BCF) 1,58-szorosa volt a környezeti koncentrációnak. Ugyanennél a fajnál, de más fémek esetén magasabb BCF értéket jelentettek. Cd esetében 3-szorost (Heck et al. 1995), Cr és Zn esetében 4-szerest (Didden és Römbke 2001). Sokkal magas BCF értékeket mértek az *E. buchholzi* esetében, mely az agar-agar táptalajban lévő fémeknek volt kitéve: 12 nap után a BCF érték kadmiumnál 262, réznél 11,4, ólomnál 9,7, cinknél 20-szorosa volt a környezeti koncentrációnak (Rüther és Greven 1990). Azonban csak a Cu esetében került el a televényféreg a fémmel dúsított táplálékot. Általánosságban a bioakkumuláció különbsége különböző fajok között nagyon alacsony (Didden és Römbke 2001), jelezvén egy közös detoxifikációs stratégia meglétét a televényféregknél.

Willuhn et al. (1994a, b, 1996a, b) egy nagyon érdekes kísérletsorozatot végzett az *E. buchholzi* kadmiummal és rézzel szembeni detoxifikációs stratégiájával kapcsolatban. A víz alatt, letális dózis alatti CdCl₂ koncentrációnak kitéve a férgek a Cd kontrollértékek 60-70-szeresét halmozták fel. A

Cd kezelés jelentősen csökkentette a szaporodást, de a férgek gyorsan felépültek, miután szennyezetlen közegbe kerültek. A kísérlet kezdete után pár órával a férgek elkezdtek egy újfajta mRNS kódolást egy cysteinben gazdag nonmetallotionein protein számára, mely valószínűleg részt vett a Cd megkötésében. Valószínűleg ennek a stratégiának az alkalmazása okozta a lecsökkent szaporodást. A réznek való kitettség nem eredményezte ugyanazt a reakciót. Cu és Zn kombinációjának kísérlete során (Sjögren et al. 1995) a *C. sphagnetorum* a rezet csak egy bizonyos mennyiségben halmozta fel, a cinket azonban a környezeti szintnek megfelelően. Ez arra enged következtetni, hogy a *C. sphagnetorum* rendelkezik egy olyan mechanizmussal, ami segíti a Cu kiválasztását, vagy a felvételének blokkolását. Számos szerző megfigyelte a fémek keverékének hatását laboratóriumban. Komulainen és Mikola (1995) kísérletében a *C. sphagnetorum*-ot 200ppm Cu + 100 ppm Ni hatására tesztelte. Egy túlevelű erdő talajába helyezték 138 napra, és azt találták, hogy semmilyen hatással nincs ez a kezelés a televényféregre. Didden és Römbke 2001-ben írt cikkében egyértelműen alacsonyabb 70 napos EC₅₀ értékekről írt Cu irányában a *C. sphagnetorum*-mal kapcsolatban, mikor azt *Pleurococcus*-szal etették (EC₅₀+ 175 ppm), mint amikor *Mortierella isabellina*-val (EC₅₀ +- 600 ppm). Römbke egy közönséges televényféreggel való kísérletében, mely során sárgarézport alkalmazott (ez egy túlnyomó részében cinkből és rézből álló keverék katonai használatra), egy 28 napos LC₅₀ 1660 ppm-ről számolt be (Didden és Römbke, 2001). Sajnos nagyon kevés terpadat van a fémek televényféregre kifejtett hatásáról. Bengtsoon és Rundgren (1982) alacsony televényféreg sűrűséget és diverzitást találtak egy sárgaréz őrlő környékéről, mely rezet és cinket bocsát ki, míg Salminen és Haimi (1999) csökkent *C. sphagnetorum* sűrűségről számoltak be egy Cu – Ni kohó közeléből. Dél-Lengyelországban, Olkusz közelében végzett kutatások – melyben 9 nemzetséghez tartozó 18 televényféreg fajt vizsgáltak – megállapították, hogy a legalacsonyabb átlagos fajsűrűség (3932 egyed/m²) a legnagyobb heterogenitás mellett a leginkább szennyezett területeken mutatható ki, míg a referencia területként kijelölt - legkevésbé szennyezett terület fajsűrűsége volt a legnagyobb (16333 egyed/m²). Az is kimutatható volt ugyanekkor, hogy a kevésbé szennyezett területeken a heterogenitás csökken, a referenciaterület uralkodó faja (több mint 90%-os aránnyal) a *C. sphagnetorum* volt (Tosza et al. 2010). Hasonló eredményt hozott az öt különböző élőhely 43 helyszínén Kapusta et al. (2011) által szintén Lengyelországban végzett vizsgálat is. Kimutatták, hogy a cink és kadmium szennyezettség negatívan befolyásolták a televényféreg sűrűségét. A nehézfémek hatásainak kutatása során, általánosságban megállapítható, hogy a humuszfogyasztó televényféregben volt inkább nagyobb a koncentráció, mint az avar-fogyasztó fajokban. Általában a városi erdőkben élő televényféreg magasabb Pb és Cd koncentrációkat mutattak, mint más földben élő organizmusok, jelezve ezzel, hogy ezek a férgek jó fémindikátorok (Didden és Römbke 2001).

2.4.3. Ökotoxikológiai tesztek a közönséges televényféreggel (*Enchytraeus albidus*)

A televényféreg biológiájáról sokáig igen keveset tudtunk, annak ellenére, hogy a talajban található szerves anyagok lebontásában hasonlóan fontos a szerepük, mint a földigilisztáknak (Didden 1993).

A rendelkezésre álló tapasztalatok összegyűjtésével felismerték, hogy ezek az élőlények, összehasonlítva más talajlakó állatcsoportokkal, meglehetősen érzékenyen reagálnak a vegyi anyagokra (Beck et al. 1988; Rozen et al. 2004). Ma már tudjuk, hogy a peszticidek közvetlenül (pl. gombaölők) és közvetett (pl. gyomirtók, a tápanyagkészlet csökkentésén keresztül) módon is képesek kedvezőtlen hatást kifejteni a televényféregre (Didden és Römbke 2001). Mindezekén túl, számos adat került birtokunkba a különböző nehézfémek és mikroelemek televényféregre gyakorolt hatásairól is (Lock és Janssen 2001a,b, 2002a,b; Novais et al. 2010; Lindfeld et al. 2011; Amorim és Scott-Fordsmand 2012). Életmódbeli hasonlóságuk lehetővé tenné és lényegesen kisebb számban találunk is más, pl. *Cognettia* fajokkal elvégzett toxikológiai vizsgálatokat (Salminen et al. 1996; Salminen és Sulkava 1997), mégis csak az *Enchytraeus* nembe tartozó fajokkal végeznek standardizált ökotoxikológiai laboratóriumi teszteket.

A televényféreg ökotoxikológiai vizsgálatokban való első felhasználása és ennek publikálása közel negyven évvel ezelőtt történt (Weuffen 1968). Az első szabványosított eljárások néhány televényféreg fajra (*Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus crypticus*) több mint 20 évvel ezelőtt születtek, de csak Römbke és Moser (2002) munkája nyomán váltak általánosan ismertté. Az eljárások fejlődése nyomán, ezeket az állatokat nem csak talajon, hanem vízben (Römbke és Knacker 1989; Achazi et al. 1995) és agaron (Arrate et al. 2002) is alkalmazták.

A televényféreggel végzett talajtoxikológiai tesztek kezdetén kételyek merültek fel az állatcsoport alkalmazhatóságát illetően. Néhányan kétségbe vonták, hogy a földigiliszták és az ugróvillások mellett a televényféregnek van-e létjogosultsága a talaj-ökotoxikológiában. A kételyek eloszlatása, valamint a televényféreg alkalmazásának bizonyítása végett több kísérletet végeztek. Különböző kémiai anyagok (Carbendazim, Lindán, LAS, Dimetoát) és nehézfémek (Zn, Cd, Mn) esetében vizsgálták e három állatcsoport, toxikus anyagokra mutatott reakcióját, valamint az okozott hatások különbségét (Martikainen 1996; Jensen et al. 2001; Lock 2002; Lock et al. 2002; Römbke és Moser 2002; Kuperman et al. 2004). A vizsgálatokban a következő állatokat alkalmazták: földigiliszták (*Eisenia fetida*, *Apor-rectodea caliginosa tuberculata*), ugróvillások (*Folsomia candida*) és televényféreg (*Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus crypticus*). Ezek alapján cáfolható Cairns (1986) kijelentése, mely szerint ezek az állatok, kis érzékenységük miatt nem lennének alkalmasak öko-

toxikológiai tesztekre. A kísérletek kimutatták, hogy a televényférgek legalább annyira érzékenyek az antropogén stresszfaktorokra, mint más talajlakó gerinctelenek.

Enchytraeus Reprodukciós Teszt (ERT)

A különböző tesztek eredményei között nagy eltéréseket figyeltek meg. A tesztek egymással való jobb összehasonlíthatósága miatt Römbke és Moser (1999) dolgoztak ki egy tesztmódszert, figyelembe véve a földigiliszták és az ugróvillások hasonló tesztjeit (ISO 1998, 1999). Az így kidolgozott módszer mind a mai napig a televényféreggel végzett ökotoxikológiai vizsgálatok alapját képezi.

Ezt a tesztet sokáig elsősorban egy-egy anyag hatásának tesztelésére alkalmazták. Az eredetileg kidolgozott módszer módosításával az elmúlt néhány évben, elsősorban Németországban, gyakran alkalmazzák a televényférgeket a talajok minősítésére, a talajok minőségének vizsgálatára (Römbke et al. 2000, Hund-Rinke et al. 2002a,b). Pótlólag a teszt időtartamát, a tesztedények méretét, a szükséges vizsgálati anyag és a táplálék mennyiségét, valamint az érvényességi kritériumokat (szaporulat száma) változtatták meg. E változtatások azért történtek, hogy a teszt alkalmas legyen természetben szennyeződött talajok vizsgálatára is. A jelenleg használatos módszer a kifejlett (adult) állatoknál az életben maradási és a szaporodási képességet vizsgálja. A tesztállat a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*), esetleg más faj, a génuszon belül, ha az egyértelműen azonosítható és tömegesen tenyészthető. A tesztek időtartama elővizsgálatok esetében 2 hét, a fő teszt a kísérleti állattól függően, *Enchytraeus albidus* esetében 6 hét, más fajok esetében 4 hét. A vizsgálat történhet mesterséges talajon: kvarc homok, kaolin, tőzeg, kalcium-karbonát és víz OECD (1984) szabványa által meghatározott keverékén vagy természetes talajon. Ennek megfelelően a vizsgált anyag tesztelése kétféle módon történhet. Egyrészt hozzákeverve a mesterséges talajhoz, másrészt a természetben szennyeződött, ill. szennyeződésmentes (kontroll) talaj összehasonlító vizsgálatával. A kísérlet beállításához 10 kifejlett (nyereggel rendelkező) állatot kell helyezni a tesztedényekbe (zárható, 0,2 – 0,25l térfogatú). Az edényeket, fénymentesen, temperált hőmérséklet ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) és 40–60% páratartalom mellett kell tartani és hetente egyszer örölt zabpehellyel kell őket etetni. A teszt érvényességének feltétele, hogy a kontrollédényekben a kifejlett állatok mortalitása kisebb legyen 20%-nál, az utódok száma pedig, *Enchytraeus albidus* esetében 25-nél, más tesztállat esetében 50-nél legyen több egy edényben a kísérlet végén. A teszt kiértékelésekor NOEC (no observed effect concentration – a legmagasabb, vizsgált, statisztikailag kimutatható hatással még nem rendelkező koncentráció) és ECx (effect concentration – a vizsgált minta x%-ra ható koncentráció) értéket határoznak meg. Referencia anyagként Carbendazim $1,2 \pm 0,8$ mg/kg koncentrációját használták.

A Német Szövetségi Környezetvédelmi Ügynökség (UBA, Berlin) megbízásából, az Európai Vegyészeti Hivatal (ECB, Ispra) segítségével próbálták ki az ERT-t egy nemzetközi körvizsgálatban (Römbke és Moser 1999, 2002). 15 országból, összesen 29 akadémiai és magán laboratórium vett részt a munkában. A legtöbb résztvevő négy kísérletet végezett, két vegyszerrel (Carbendazim és 4-Nitrofenol), két ismétlésben, a NOEC és az EC_x tesztekre vonatkozó előírásoknak megfelelően. A statisztikai kiértékeléseket követően váltak összehasonlíthatóvá a kapott értékek. Mindeddig összesen több mint 20 kémiai anyagot vizsgáltak az új módszer segítségével, beleértve a kidolgozás folyamatát is. Az egyes kémiai anyagok hatását vizsgáló ERT eredményeket közlő cikkek a következők:

- Réz, cink (Postuma et al. 1997; Posthuma és Notenboom 2000; Beylich 2001);
- Dimetoát (Puurtinen és Martikainen 1997);
- Carbendazim, 4-Nitrofenol (Collado et al. 1999; Römbke és Moser 2002);
- Lindán (Amorim et al. 1999; Lock et al. 2002);
- Malation (Kuperman et al. 1999);
- TNT, katonai szennyezők (Schäfer és Achazi, 1999); TNT (Dodard et al. 2003)
- Tylosin, Oxitetraciklin (Baguer et al. 2000);
- PAH vegyületek (Svedrup et al. 2002 – Römbke 2003 nyomán);
- As, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn (Lock 2002);

Majdnem minden tesztben a számított EC₁₀ értékek alacsonyabbak voltak, mint a beállított hígítási sorok alapján kapott NOEC-értékek. Ezek alapján vonható le az a következtetés, hogy az EC_x-értékek vizsgálata pontosabban használható a kémiai anyagok okozta kockázat felmérésére (Weyers et al. 2002). Figyelembe véve, hogy a hatóságok számára a környezeti kockázatok felbecsülése a legfontosabb, az eddig megkövetelt NOEC-értékek helyett, kombináltan NOEC- és az EC_x-értékek együttes közlése javasolt.

Jelenleg az ERT-ből kifejlesztett következő szabványok vannak érvényben: ASTM E 1676-97 (2000), ISO 16387 (2002) és az OECD 220 (2003).

Természetesen az ERT-t felhasználva egyéb, a szabványban meg nem határozott paraméterek tanulmányozására is lehetőség van. Ilyen lehet a kifejlett és fiatal egyedek érzékenységekülönbségének, vagy a különböző szennyezők biotranszformációjának a vizsgálata. Ezt bizonyítja Dodard et al. (2003) munkája, akik a 2,4,6-Tri-nitrotoluol (TNT) 21 és 42 napos hatását vizsgálták a kifejlett és a fiatal egyedekre. Kísérleteik végén megállapították, hogy a kijutatott szennyező anyag 5–10-szer erősebben fejti ki hatását a fiatal állatokra, mint a felnőttekre. Nyilvánvalóvá vált az is, hogy ez a hatás az első 21 napon lényegesen erősebb, mint a kísérlet második felében. A korszerinti érzékenység tekintetében hasonló eredményeket kapott Somogyi et al. (2004) hat nehézfém és a

szelén hatását tanulmányozva, 42 napos kísérletben. Megállapítható volt, hogy a fiatal egyedek 2–3-szor kisebb mennyiségben kijuttatott szennyezőre is érzékenyebben reagáltak, mint a kifejlett állatok. A teszt módszer alapjainak felhasználásával egészen más szempontot vizsgáltak Dodard et al. (2004), akik arra keresték a választ, hogy más alacsonyabb rendű élőlényekhez hasonlóan, a közönséges televényféreg képes-e a 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) szennyezők biotranszformációjára. Kísérleteiket a korábbi munkájuk alapján megállapított, még nem letális koncentrációk mellett végezték. Véleményük szerint mind mesterséges, mind természetes körülmények között képesek az állatok a TNT bizonyos mértékű biotranszformációjára. Az eddig elvégzett vizsgálatokból még nem derült ki, hogy a biotranszformációt az állatok, esetleg a bélcsatornájukban élő baktériumok végezték-e el.

Talajminőség értékelése

Az ERT-t még a szabványosítások folyamata alatt módosították (ISO 16387 B 2002) a felmerülő új igényeknek megfelelően. Az eredetileg kiinduló faj a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) mellett új fajként az *Enchytraeus crypticus*-t ajánlották, mivel ökológiai szükségleteit nagyjából ismerték (Achazi et al. 1999; Filimonova és Pokarzhevskii 2000). A kísérletek folyamán különböző anyagokkal szennyezett talajokat teszteltek. A vizsgálatokat elsősorban Németországban, Hollandiában és Oroszországban végezték. A talajminőség vizsgálatára különböző szennyező anyagokkal végzett ERT eredményeket közlő cikkek 1996 és 2002 között a következők voltak:

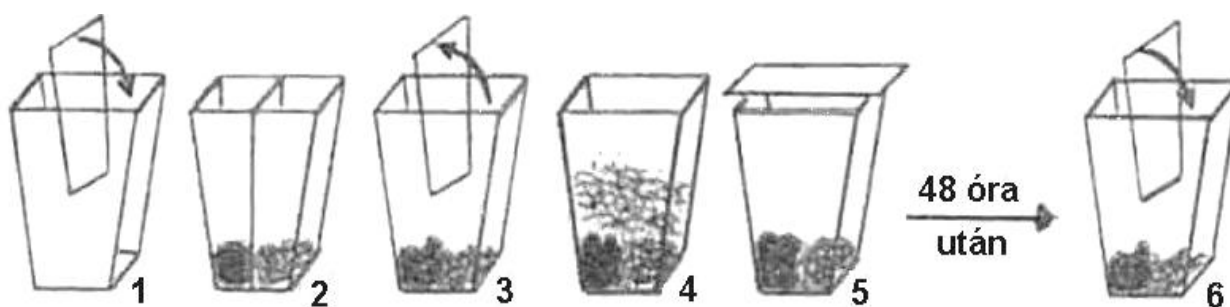
- PAH vegyületek, nehézfémek (Achazi et al. 1996; Hund-Rinke et al. 2002b);
- TNT (Schäfer és Achazi 1999; Römbke 2003);
- Nyersolaj, PAH vegyületek (Filimonova és Pokarzhevskii 2000);
- Olajszennyezés, PAH vegyületek (Juvonen et al. 2000);
- Cd, Zn (Posthuma és Notenboom 2000; Römbke et al. 2002);

A tesztelésben mindössze öt laboratórium vett részt. Ezek közül is csak kettő rendelkezett már valamilyen tapasztalattal a televényféreggel kapcsolatban, a tesztek megindulása előtt. A tesztállat az *Enchytraeus crypticus* volt, kontrollként pedig a LUFA 2.2 (Beylich, 2001) standard talajt használtak. A legérdekesebb eredmények a hollandiai Budelban születtek (Posthuma és Notenboom 2000; Römbke et al. 2002). Itt nehézfémekkel, elsősorban cinkkel és kadmiummal szennyezett talajokat vizsgáltak, remediáció előtt és után. A különböző remediációs eljárások hatására, a szennyezőanyag-koncentráció minden esetben kimutathatóan és értékelhetően csökkent. Tesztállatnak az *Enchytraeus crypticus*-t választották és a LUFA 2.2 standard talajt használtak kontrollnak. Ezt hozzákeverték a vizsgált talajhoz, amivel a két talaj alaptulajdonságait tekintve hasonlóvá vált. A remediáció után csak a talajok 50%-ánál lett alacsonyabb a toxicitási szint, a televényféregre, mint

a remediációt megelőzően. A kapott eredményekből látható, hogy ezek a biológiai tesztek, nemcsak a szennyező anyagok okozta hatást mutatták ki, hanem valamilyen más, eddig ismeretlen faktort is, amely hatással van a talajok minőségére, valamint a talajban található szennyezők tesztállatra gyakorolt hatására.

Magatartás tesztek

A földigiliszták elkerülési tesztjeinek (Yeardley et al. 1996; Slimak 1997) tapasztalataiból kiindulva Achazi et al. (1996; 1999) tettek javaslatot egy hasonló teszt létrehozására, televényféreggel. A 48 órás időtartamú teszt lényege, hogy meghatározza a televényféreg talajválasztását. Vizsgálják a tesztállat mozgását, és hogy mely területet népesítik be jobban a teszt végére. A tesztállat az *Enchytraeus crypticus*, *Enchytraeus albidus* vagy más Enchytraeidae családba tartozó faj, amely laboratóriumi tömegtenyészetben fenntartható. A vizsgált anyagot hozzá lehet keverni mesterséges talajhoz, de alkalmazható szennyezett természetes talaj és kontrolltalaj keveréke is. A kontrolltalaj minden esetben LUFA 2.2 standardizált talaj. Egy-egy tesztedénybe 20 kifejlett állatot kell, 20g talajra (10g kontroll- és 10g tesztalaj) helyezni. A hőmérséklet $20\pm 1^\circ\text{C}$, a talajnedvesség 50% $V_{k_{max}}$. Tíz ismétlést kell beállítani, fénymentes környezetben. A teszt akkor érvényes, ha az elhullás nem több mint 20%. A teszt kiértékelésekor a tesztedényekben tapasztalható különböző eloszlást kell összevetni a kontrolltalajban tapasztalható eloszlással. Elkerülést vizsgálva, a 20 állatot a kontrolltalajra, menekülést vizsgálva pedig a tesztalajra kell helyezni. Kombinált teszt esetében a 20 állatot egy vonalban kell a két oldal közé helyezni, vagy 10–10 állatot mindkét oldalra (Achazi et al. 1999). A módszer lényegét jól szemlélteti a 4. ábra.



4. ábra: Sematikus vázlat a televényféreg (*Enchytraeidae*) elkerülési teszt kísérleti eljárásáról (AMORIM et al. 2005 nyomán).

1. A mozgatható válaszfalat behelyezzük a tesztedény közepébe.
2. A fal két oldalára helyezzük a tesztelni kívánt talajokat.
3. Eltávolítjuk a válaszfalat.
4. A televényférgeket kihelyezzük, középre a tesztedénybe.
5. Letakarjuk a tesztedényt.
6. Visszahelyezzük a falat, szeparáljuk a két talajt egymástól és megszámoljuk a két oldalon található állatokat

Magatartás tesztek végeztek nehézfémekkel (Römbke 2003) és különböző növényvédő szerekkel: gombaölő szer (Benomyl – Solo de DuPont, 50%; Carbendazim – AgrEvo, 360 g/l), gyomirtó szer (Phenmedipham – Stähler Agrochemie, 157 g/l) (Amorim et al. 2005b) és rovarölő szer (Cymbusch) (Römbke, 2003). Az ólommal szemben menekülési reakciót tapasztaltak, míg a kadmiumot nem érzékelték a kijutatott koncentrációkban a tesztállat. A különböző peszticidek közül a Cymbusch rovarölő szer váltott ki menekülést, már nagyon alacsony (0,04mg/kg) koncentrációban (Römbke 2003). A többi növényvédő szer esetében megfigyelhető volt, hogy a hatást nagyon erősen befolyásolta, hogy milyen talajon végezték a kísérletet. Amorim et al. (2005a) kétféle mesterséges talajt (OECD 1984; LUFA 2.2) és több, Ausztriából, Görögországból és Németországból származó természetes talajt teszteltek. Általánosságban elmondható, hogy a LUFA 2.2 talajon minden esetben hamarabb jelentkezett a menekülés, mint az OECD (1984) talajon, míg a természetes talajokon ez még inkább felerősödött, de a Cymbusch rovarölő szerhez hasonló alacsony koncentrációnál egyik esetben sem találtak kimutatható reakciót.

Ezek a magatartás tesztek hasznos kiegészítői lehetnek a már létező akut és krónikus teszteknek, mivel a talajról vagy a vizsgált anyag toxikusságáról már a 48 órás teszt lezárását követően, néhány napon belül megkaphatjuk az első eredményeket. Jelenleg a földigilisztákra és ugróvillásokra már van elfogadott ISO szabvány (ISO 2008; ISO 2011), míg a televényférgekre kidolgozott módszer szabványosítása folyamatban van.

Bioakkumulációs tesztek

A Német Szövetségi Környezetvédelmi Ügynökség (UBA, Berlin) néhány évvel ezelőtt pénzalapot hozott létre egy szabványosított eljárás kidolgozására, mellyel a vegyi anyagok bioakkumulációjának mértékét meg tudják határozni a földigilisztáknál és a televényférgeknél (Bruns et al. 2001). A rovarölő szerek közül a Lindánt, míg a gombaölő szerek közül a hexaklór-benzolt alkalmazták, mint modellvegyeszt. Két televényféreg fajt (*Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus luxuriosus*) választottak ki tesztállatnak, könnyű kezelhetőségük és a talajban betöltött fontos ökológiai szerepük miatt. Mesterséges és természetes talajokat is alkalmaztak a vizsgálatokhoz. A tesztben vizsgált koncentrációkat, a korábban a különböző fajokon elvégzett akut és reprodukciós toxicitási vizsgálatok eredményei alapján határozták meg. A teszt idejét 42 napban határozták meg. Az eredmények alapján látható, hogy mind a két vegyszer lényegesen nagyobb mértékben akkumulálódott a két televényféreg fajban, mint a földigilisztákban. A bioakkumulációs faktor (BAFs) mindkét vegyszerre nézve szignifikánsan magasabb volt a televényférgekben. Az eddigi adatok arra utalnak, hogy a két televényféreg közül a kisebbik (*E. luxuriosus*) valamivel jobban akkumulálja a két vegyest, mint az *E. albidus*. A mesterséges talajon azt is kimutatták, hogy a kémiai anyagok a

tesztek egy jelentős százalékában szinte teljesen eliminálódtak a talajból. Hasonló tapasztalatokról számolt be egy portugál kutatócsoport is (Amorim et al. 2002), akik ugyancsak a Lindánt vizsgálták mesterséges és természetes talajon is. Megállapították, hogy a mesterséges talajra kijutatott Lindán 90%-a két nappal a kiadást követően eliminálódott. Ugyanez az érték a természetes talaj esetében 67% volt. Ennek megfelelően a mesterséges talajon számolt bioakkumulációs faktor 6 körüli értéket mutatott, míg természetes talajon 10 körüli értéket számoltak. Hasonló jellegű kísérleteket végzett nehézfémek felhasználásával Lock és Janssen (2001c).

A kezdeti nehézségeket kiküszöbölve a bioakkumuláció tesztmethodusa arra a szintre fejlődött, hogy OECD „draft”-tal rendelkezett és elkezdődtek a nemzetközi körtesztek (Philipp et al. 2006). A tesztsorozatban 12 különböző kutatóintézet vett részt. Összesen 19 tesztet végeztek hexaklórbenzollal és 40 tesztet cadmium kloriddal. A tesztekben az *Enchytraeus albidus*, az *Enchytraeus crypticus* valamint az *Eisenia fetida/andrei* szerepeltek, mint tesztállat. A ringtesztek eredményeinek összefoglalása, validálása a Német Szövetségi Környezetvédelmi Hivatal kezelésében, FKZ: 204 67 458 nyilvántartási számon 2009-ben jelent meg (Egeler P. et al 2009). A kísérlet-sorozat eredményeként az OECD a módszert, mint kémiai elemek tesztmódszerét 317-es azonosító számon elfogadta (OECD 2010).

Új típusú anyagok (GMO, nano anyagok) vizsgálata televényféreggel

Az elmúlt években számos kutatást végeztek, hogy feltárják a genetikailag módosított növények hatását a környezetre. Ezek között a kísérletek között találunk az *Enchytraeus* fajokkal, mint fontos dekomponista szervezetekkel végzett vizsgálatokat is. Lindfeld et al. (2011) lisztharmat ellen kifejlesztett transzgenikus búzával végeztek etetési kísérleteket, miközben a reprodukcióra és mortalitásra gyakorolt hatást vizsgálták. Az ilyen növények a kitináz és glükánáz enzimaktivitáson keresztül fejtik ki hatásukat a gombák ellen. A vizsgálatok kimutatták, hogy a magasabb enzimaktivitásnak nincs vagy alig kimutatható hatása van a reprodukcióra, de a túlélő felnőttek számát negatívan befolyásolta. Ugyanakkor öt hagyományos búzafajta összehasonlítása is jelentős eltérést mutatott a túlélő egyedek számában, így kérdésessé vált, hogy a transzgenikus növény hatása ökológiai, esetleg egyéb biotikus, abiotikus vagy genetikai tényezőkre vezethető vissza. A növények beltartalmi értékének (lignin, hemicellulóz, cellulóz) elemzése nem mutatott különbséget a transzgenikus és hagyományos búzafajták között. Hönemann és Nentwig (2009) vizsgálata pedig arra kereste a választ, hogy a Bt-kukoricával táplálásnak milyen hatása van közönséges televényféreg (*E. albidus*) túlélésére és szaporodására. A kísérlet során az állatokat négy transzgenikus vonal (N4640Bt Cry1Ab, DKC5143Bt Cry3Bb1) két nem-transzgenikus vonal (N4640, DKC5143) levélmaradványaival és az *Enchytraeus* standardokban előírt zabpehellyel etették. Az eredmények érdekes kettősséget mutat-

tak. Voltak vonalak melyek esetében sem a mortalitásban, sem a reprodukcióban nem volt kimutatható hatás. A Cry1Ab vonal esetén a túlélési arány magasabb, míg a szaporodási ráta szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a normál kukorica esetén. A legmagasabb túlélési és szaporodási rátát a tisztán zabpehellyel etetett állatoknál találták.

A nanotechnológia segítségével előállított termékek száma és köre rohamosan növekszik. Ma már több mint ezer különböző ilyen termék van a piacon. Környezeti jelentőségük egyre nagyobb, hiszen a nanotechnológiával előállított termékek egy része (tisztítószeresek, motorok adalékanyagai, nano-fémek, fullerének és nanocsövek stb.) bizonyosan bejut a talajokba is. Hatásuk a talajállatokra azonban jelenleg még alig ismert. Amorim és Scott-Fordsmand (2012) közösen publikált cikkében réz nanorészecskék toxicitását vetik össze réz-só toxicitásával. A vizsgálat a tesztállatként használt *E. albidus* reprodukció változásán túl az állatok viselkedését, elkerülési válaszreakcióit is figyelte. Megállapítható volt, hogy mind az élettani, mind a fizikai sajátosságokra adott válaszreakciók alapján a nanorészecskéket tartalmazó réz készítmény szignifikánsan toxikusabb. Számszerűsítve:

nano réz esetében: $EC_{50(\text{reprod})}$: 95mg/kg, $EC_{50(\text{elkerülés})}$:241mg/kg;

hagyományos $CuCl_2$ só esetében: $EC_{50(\text{reprod})}$: 251mg/kg, $EC_{50(\text{elkerülés})}$:475mg/kg.

Összefoglalva az eddig leírtakat, megállapítható, hogy az Enchytraeidae (Oligochaeta, Annelida) családba tartozó kistestű televényféreg, fontos szerepet töltenek be sok ökoszisztémában. Rendkívül érzékenyek az antropogén stresszfaktorokra. Az *Enchytraeus* Reprodukciós Tesztet (ERT) különböző kémiai anyagok hatásvizsgálatára, valamint talajminőség megállapításához fejlesztették ki. A kidolgozott új módszer révén lehetőség nyílt a korábbi, különböző tesztek eredményeiben megfigyelhető nagy változatosság csökkentésére, valamint tanulmányozhatóvá vált a televényféreg különböző antropogén stresszfaktorokkal szemben mutatott érzékenysége. Az ERT alapján dolgoztak ki és fogadtak el több szabványosított teszteljárást, melyek egyrészt a televényféreg magatartás vizsgálatán, másrészt a bioakkumulációs hatások vizsgálatán alapulnak.

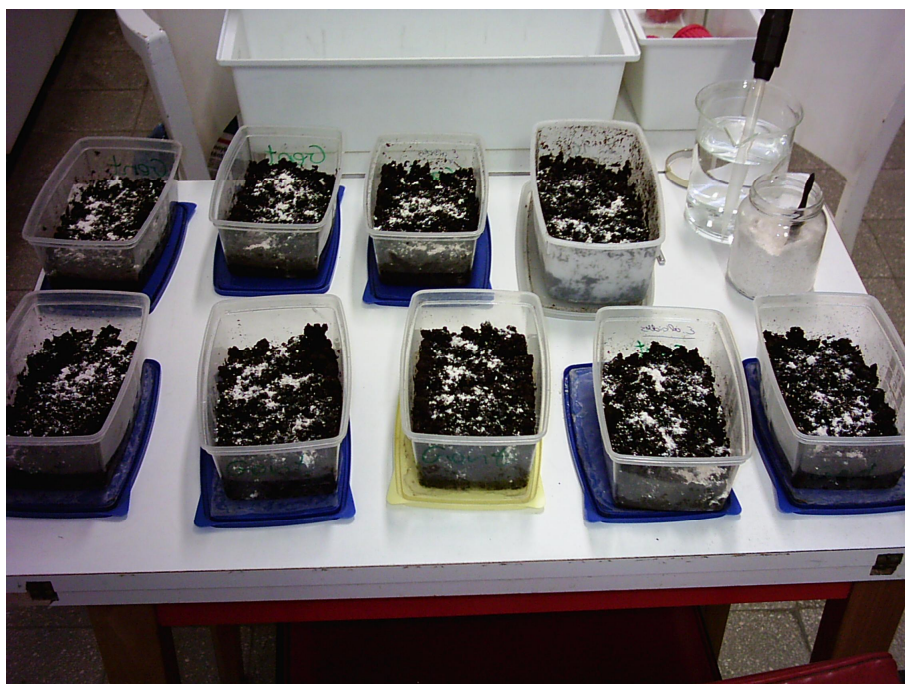
A számos különböző kísérlet, a már elfogadott szabványok és a még fejlesztés alatt lévő tesztmódszerek mind-mind megerősítik, hogy ez az állatcsoport (*Enchytraeidae*) és ezen belül is alapvetően három faj (*E. albidus*, *E. crypticus* és *E. luxuriosus*) különösen alkalmas talajokon végzett ökotoxikológiai tesztekre.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

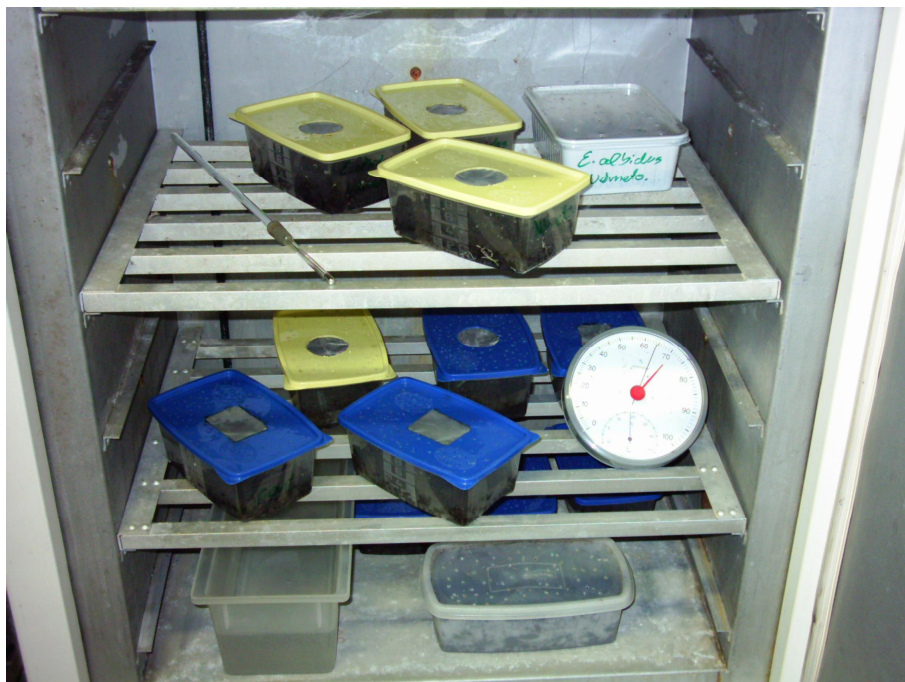
3.1. A kísérleti állatok

Vizsgálatainkat a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) alkalmazásával végeztük el. A kísérleti állat törzstenyészetét Jörg Roembke az ECT Oekotoxikologie GmbH (D-65439 Floersheim am Main, Germany) egyik tulajdonosa bocsátotta rendelkezésünkre. A tenyészet tisztaságát Dózsa-Farkas Klára Professzor Asszony, az ELTE Állatrendszertani és Ökológiai Tanszékének tanára ellenőrizte.

A törzstenyészet fenntartására az állatokat lukasztott fedelű, műanyag dobozban (1. kép), fénymentesen termosztátban tartottuk, hagyományos, boltban kapható, általános virágföld és porított tőzeg keverékén. A talaj anyagát felhasználás előtt autoklávban sterilizáltuk. A termosztát hőmérséklete 17-18°C, páratartalma 70-80% közötti volt (2. kép). A talaj víztartalmát a vízkapacitás 55-60% közé állítottuk be. A dobozokban lévő földet hetente egyszer óvatosan átmozgattuk, ekkor ellenőriztük a közeg nedvességtartalmát és ekkor történt az etetés is, porított zabpehely ill. porított gabonapehely keverékével. A törzstenyészetek talaját, változó időközönként, de átlag 3-4 havonta frissíteni kellett, a nagy számban felszaporodó állatok miatt. Ez úgy történt, hogy a tenyészvényben lévő talajok felét, az állatokkal együtt kivettük, majd a hiányzó talajmennyiséget a korábban már említett friss virágföld és tőzeg keverékével pótoltuk.



1. kép: A törzstenyészet elhelyezése műanyag dobozban, a közeg tetején a porított zabpehely látható



2. kép: A törzstenyészetek elhelyezése a termosztátban

3.2. Mikroelemek hatástartam vizsgálata

3.2.1. A mikroelem hatástartam vizsgálat során használt talaj származása

A kísérletben felhasznált talajt a MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete Nagyhörcsöki Kísérleti telepéről gyűjtöttük be. A telep Fejér megye déli részén, Sárbogárdtól mintegy 20km-re ÉNy-ra fekszik, az Alföld nagy tájának Dunántúlra eső Mezőföld részén helyezkedik el, a Ny-mezőföld „Bozót-sárvíz közti löszhát” geomorfológiai tájrészében. Tengerszint feletti magassága 140-150m, talajképző kőzete 15-20m vastagságú lösz (Kádár 1995). A terület hidrológiai, éghajlati, növényföldrajzi viszonyai a Nagyalföldéhez hasonlóak. Részletes talajföldrajzi feltárások alapján a kísérleti terület a dunavölgyi mészlepedékes csernozjomok közepes és mélyebb humusgrétegű változata, 0,5-1m humusgréteggel. A területre jellemző talajparaméterek a 4. táblázat B sorában olvashatók.

3.2.2. A mikroelem hatástartam vizsgálat során használt talaj szennyezése

A tartamkísérlet 1991-ben került beállításra bekerített kísérleti telepen, melynek területe: 4192 m². Ezen belül osztott parcellákon 4 terhelési szintben, 2 ismétléssel valósult meg a vizsgált 13 mikroelem kijuttatása, összesen: 2184 m² területen. A fennmaradó 2008 m²-nyi területet, a parcellákat

egymástól elválasztó utak és szegélyek alkotják. A kísérleti kezeléseket és az alkalmazott sók formáit és a kijuttatott hatóanyag mennyiségét a 2. táblázat ismerteti (Kádár 1995).

2. táblázat: A kísérlet során alkalmazott egyszeri terhelések 1991-ben; Kísérleti telep, Nagyhörcsök (Kádár 1995)

Elem jele	Adagolás 1991. tavasz, mg/kg				Alkalmazott sók formája
	0/10	30	90	270	
Al	0	30	90	270	AlCl ₃
As	30	90	270	810	As ₂ O ₃ /NaAsO ₂ (4:4.3)
Ba	0	30	90	270	BaCl ₂ ·2H ₂ O
Cd	10	30	90	270	CdSO₄·8/3H₂O
Cr	0	30	90	270	K₂CrO₄
Cu	0	30	90	270	CuSO₄·5H₂O
Hg	10	30	90	270	HgCl₂
Mo	0	30	90	270	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O
Ni	0	30	90	270	NiSO ₄ ·7H ₂ O
Pb	0	30	90	270	Pb(NO₃)₂
Se	10	30	90	270	Na₂SeO₃
Sr	0	30	90	270	SrSO ₄
Zn	0	30	90	270	ZnSO₄·7H₂O

Nagyhörcsökön, a kísérleti telepen vizsgált valamennyi elem, az elemekből kijuttatott mennyiségek és a kijuttatás során alkalmazott sók formái. Vastag betűvel szedve azok az elemek, amelyeket mi a kísérleteinkben vizsgáltunk.

A kísérlet beállítása óta a mintavételig eltelt idő alatt végbement változásokat a talajok mikroelem és nehézfém tartalmában a 3. táblázat szemlélteti.

Az általunk vizsgált elemeknek a kontroll talaj szántott rétegében NH₄-acetát+EDTA-ban oldható elemtartalma – a talajmintavétel (1998) időpontjában – a következő volt:

Kadmium (Cd):	0,0-0,1 mg/kg
Króm (Cr):	0,0-0,1 mg/kg
Réz (Cu):	3-4 mg/kg
Higany (Hg):	0,0-0,1 mg/kg
Ólom (Pb):	3-4 mg/kg
Szelén:	0,0-0,1 mg/kg
Cink (Zn):	1,5-2,8 mg/kg

A 3. táblázatban és a fenti oszlopban leírt adatokat az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézetének ICP Laboratóriumában mérték. A mérési eredményeket Dr. Kádár Imre bocsátotta rendelkezésünkre.

3. táblázat: Mikroelem terhelés hatása a szántott réteg NH₄-acetát+EDTA oldható elemtartalmára. Karbonátos vályog csernozjom talaj. Nagyhörcsök.

Mintavétel éve	Terhelés 1991. tavaszán, mg/kg (összes elemtartalom)			
	0/10	30	90	270
Kadmium (Cd) mg/kg				
1991	0	30	89	228
1994	0	14	44	164
1998	0	23,7	71	168
Króm (Cr) mg/kg				
1991	0	2	6	30
1994	0	1	2	4
1998	0	0,4	0,9	1,5
Réz (Cu) mg/kg				
1991	7	24	49	110
1994	4	23	65	192
1998	4	19,5	51	131
Higany (Hg) mg/kg				
1991	0	4	49	189
1994	0	2	12	41
1998	0	0,1	2,2	17
Ólom (Pb) mg/kg				
1991	5	29	56	158
1994	5	29	101	260
1998	4	31	87	167
Szelén mg/kg				
1991	0	7	23	123
1994	0	8	33	89
1998	0	2	7	28
Cink (Zn) mg/kg				
1991	2	13	55	153
1994	1	19	44	147
1998	2	20	47	124

3.2.3. A mikroelem hatástartam vizsgálat beállítása

Kísérleteinket az ERT előírásait figyelembe véve terveztük meg, figyelembe véve a Szent István Egyetem, Állattani és Állatökológia Tanszéken korábban más állatokkal elvégzett hasonló vizsgálatok eredményeit (Feké 1999). A Se esetében a teljes szennyezési sort teszteltük, a többi elemnél (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) a legmagasabb kijutatott szennyezési szintű (270 mg/kg) parcellák talajjával kezdtük meg a vizsgálatokat.

A kísérlethez felhasznált talajokat a tanszék munkatársai 1998 nyarán hozták be a nagyhörcsöki kísérleti telepről. A későbbi felhasználásra szánt talajmintákat kiszárítva, lezárva, 5°C-os hőmérsékleten tárolták. A vizsgálat elindítása előtt az első feladat a lehűtött, kiszárított talaj felmelegítése és nedvességtartalmának beállítása volt. A nagyhörcsöki talaj 100%-os vízkapacitása 100g talajra vetítve 53,13g víz.

Szelén vizsgálata

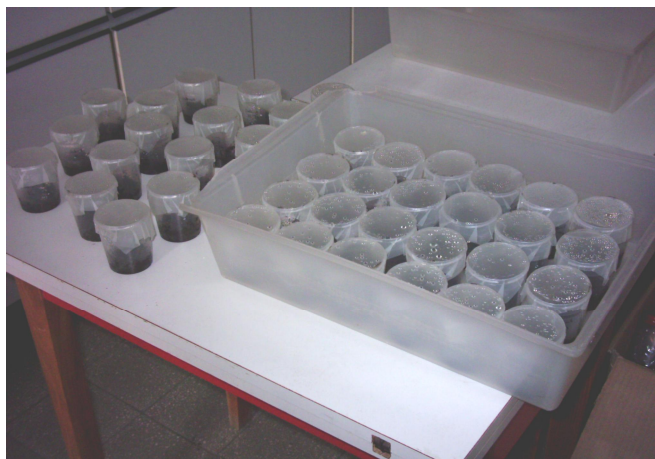
Szelén esetében a kontrol talaj mellett négy terhelési szinten végeztünk vizsgálatokat. A terhelési szinteket az egyszerűbb azonosíthatóság végett a kijuttatási koncentrációkkal azonosítottuk. Vizsgálatonként hármas ismétléssel dolgoztunk, így összesen 15 tenyészedényt használtunk. Az edényekbe egyenként kimérve 20 g száraz talajt, 5,85 g vizet (víztartalom a vízkapacitás 55%-a), 0,6 g porított zabpelyhet kevertünk és erre helyeztünk 10 db kifejtett, petés állatot. Az edényeket parafilmmel zártuk le (3. kép). Az így beállított kísérleti edények – a törzstenyészet tartási körülményeivel megegyező körülmények között – termosztátban véletlenszerűen helyeztük el.

Nehézfémek vizsgálata – 810 kg/ha kijuttatott hatóanyagtartalom

Az előző kísérlethez képest a nehézfémek (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) vizsgálatában változást jelentett, hogy egyszerre egy terhelési szintet néztünk (a 270 mg/kg terhelésnek megfelelőt – ez 810 kg/ha kijuttatott hatóanyag mennyiségnek felelt meg), öt ismétléssel. Így 35 tenyészedényt használtunk. A talaj, a víz, a zabpelyhely és az állatok mennyiségén illetve az edények lezárásán és elhelyezési módján nem változtattunk.

Nehézfémek vizsgálata – 270 kg/ha kijuttatott hatóanyagtartalom

A nehézfémek vizsgálata során alkalmazott legmagasabb terhelési szint (Nehézfémek vizsgálata – 1. kísérlet) okozta hatások kiértékelése után döntöttünk úgy, hogy azonos feltételek mellett, azonos módon beállítva megvizsgáljuk az 1991-ben 90 mg/kg-os (270 kg/ha kijuttatott hatóanyag mennyiség) egyszeri terheléssel szennyezett talajok hatásait is. A kísérleti beállítás itt is az előzőnek megfelelő volt.



3. kép: Parafilmmel lezárt, random módon elhelyezett 10 kifejtett, petés állatot tartalmazó teszedények

3.2.4. A mikroelem hatástartam vizsgálat lebontása

A kísérletek időtartama 6 hét volt, ami után a lebontás következett. Ennél a műveletnél a talajalkotó elemek és a televényférgek teste közötti fajsúlykülönbséget használtuk ki. Tömény, 20 V%-os cukoroldatot készítettünk. Ebből 80 cm³-t öntöttünk az éppen vizsgált tenyészetbe, majd vékony üvegbottal, óvatosan felkevertük a talajt. A cukoroldat és a keverés együttes hatására az addig a talajban lévő valamennyi állat (adult és juvenilis) az oldat felszínére került. Ezt a műveletet 5 perces ülepítés követte, melynek célja az volt, hogy a felkevert, de nehezebb fajsúlyú talajszemcsék valamelyest leülepedjenek. Ezt követően az oldatot a benne lévő állatokkal együtt egy tiszta edénybe öntöttük át, majd a kísérleti edényben maradt, egyszer már átmosott talajjal az egész műveletsort újra megismételtük. A talajokról leöntött cukoroldatot osztott aljú petricsészékben vizsgáltuk át. Az általunk választott módszer előnye:

- Gyors, nem kell sokat várni, mint a festéses módszereknél
- Biztonságos, nem alkalmaz sem alkoholt, sem különböző vegyszereket
- Nem csak az állatok száma határozható meg, de egészségi állapotukra is lehet következtetni, mivel a kísérlet lebontása során az állatok nem pusztulnak el

A vizsgálat eredményeit a Statistica 5.0 softwerrel, LSD-teszt (legkisebb szignifikáns differencia) alapján elemeztük.

3.3. Különböző szelénformák akut hatásvizsgálata

3.3.1. A vizsgált talajok

A kísérleteink során fontos volt számunkra hogy állandó mezőgazdasági művelés alatt álló területekről, bevizsgált talajparaméterekkel rendelkező és – a szelén felvehetőségét leginkább befolyásoló – eltérő pH-jú talajokkal dolgozzunk. Ennek megfelelően a talajokat a Károly Róbert Főiskola, Fleischmann Rudolf mezőgazdasági Kutatóintézet kompolti, az MTA, Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet nagyhorcsöki és a Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum Karcagi Kutatóintézet karcagi kísérleti telepéről vettük. A talajparaméterek a 4. táblázatban olvashatók.

A talaj mintavétel minden esetben – kutatóintézetekről lévén szó – a kontroll parcellákban, a szántott rétegből történt. A mintavételt követően a talajokat szabad levegőn súlyállandóságig szárítottuk, majd 2*2 mm lukméretű szitán átdolgoztuk. Az így kapott talajmintákat légmentesen lezárva, hűtőszekrényben, 5°C-os hőmérsékleten tartottuk a kísérletek kezdetéig.

4. táblázat: A kísérleteink során felhasznált talajok jellemző talajparaméterei

Talaj típus	Mechanikai összetétel (%)			pH (H ₂ O)	CaCO ₃ %	Na ₂ CO ₃ %	Oldható só %	Humusz %
	Homok	Iszap	Agyag					
A	5	49	46	5,8	n.k.	n.a.	n.k.	2,58
B	17	60	23	7,1	1,8	n.a.	n.k.	3,1
C	0,3	52,9	46,8	6,8	2,0	0,005	0,093	3,32
Kicserélhető kationok								
	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺		Na ⁺	S	T	
	Mgeé/100g							
A	30,8	3,7	1,3		0,9	36,7	41,8	
B	29,2	1,4	1,2		1,5	33,3	32,2	
C	23,21	4,89	0,94		2,34	31,38	n.a.	

n.k. – nem kimutatható; n.a. – nincs adat

A – komposti talaj; B – nagyhőrcsöki talaj; C – karcagi talaj

3.3.2. Vizsgálati anyagok

Kísérleteinkben, a mikroelem hatástartam vizsgálat eredményeinek kiértékelése után, két vízben oldódó szelénformának, a Na-szelenit és a Na-szelenát hatását vizsgáltuk. A felhasznált elemek azonosító számai és származásuk az 5. táblázatban olvasható.

5. táblázat: A kísérleteinkben felhasznált két szelénforma azonosító adatai

	Na-szelenit	Na-szelenát
Képlet	Na ₂ SeO ₃ * 5 H ₂ O	Na ₂ SeO ₄
Molekula tömeg (g/mol)	263,01	188,94
RTECS szám	VS7420000	VS6650000
CAS regisztrációs szám	26970-82-1	13410-01-0
Cikkszám	Merck KGaA, No. 106607	SIGMA-ALDRICH, No. 71948

3.3.3. Módszer

Kísérleteink módszertani alapját a televényféreg reprodukciós tesztjéről szóló OECD (2003) szabvány adta. Módosításokat, konzultálva és egyeztetve a módszer kidolgozójával, Jörg Römbke-vel a lebontás folyamatánál alkalmaztunk. Kísérleteinkhez – a mikroelemek tartamhatás vizsgálata során már bevált – Labsystem Kft. 150 ml-es steril, mintatartó edényeit használtuk (4. kép). Az edényekbe 20 g száraz talajt mértünk, amihez kevés örölt zabpelyhet kevertünk. A talajok víztartalmát a vízkapacitásuk 55-60 %-a közé állítottuk be. A szennyezőként használt szelén kijuttatása, a talajok megfelelő nedvességi állapotához szükséges vízmennyiséggel együtt, oldott állapotban történt. Egy-egy talajtípus vizsgálatánál a kontroll talajon kívül hat különböző koncentrációt alkalmaztunk. A kontroll talaj esetében tíz, a szennyezett talajok esetében koncentrációnként öt ismétléssel dolgoztunk. A különböző szelénformákból kijutatott mennyiségekről a 6., 7., 8. táblázatok adnak felvilá-

gosítást. A pontos mennyiségeket az MTA, Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézetének ICP laboratóriumában mérték ki.



4. kép: A tesztállatok (*E. albidus*) kísérlet ideje alatti elhelyezésére szolgáló 150ml-es steril edények

6. táblázat: A kompolti talajon, a laborkísérletek során alkalmazott Se-koncentrációk

Na-szelenit			Na-szelenát		
Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)	Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)
K	< k.h.	< k.h.	K	< k.h.	< k.h.
2	3,88	0,27	2	2,92	2,79
3	8,89	0,61	3	6,14	6,04
4	16,75	1,42	4	12,46	11,80
5	33,15	3,37	5	25,58	25,08
6	70,65	10,15	6	49,51	48,37
7	144,5	31,7	7	101,54	98,54

K: Kontroll talaj

„összes”: $\text{ccHNO}_3 + \text{ccH}_2\text{O}_2$ oldható Se - kimutathatósági határ (k.h): 0,6 mg/kg

„felvehető”: NH_4 -acetate + EDTA oldható Se - kimutathatósági határ (k.h): 0,12 mg/kg

7. táblázat: A nagyhörcsöki talajon, a laborkísérletek során alkalmazott Se-koncentrációk

Mortalitás vizsgálat					
Na-szelenit			Na-szelenát		
Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)	Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)
K	< k.h.	< k.h.	K	< k.h.	< k.h.
2	6,21	1,83	2	4,41	3,57
3	12,8	3,89	3	8,75	7,66
4	24,8	9,28	4	17,0	15,8
5	42,6	17,55	5	29,45	29,1
6	76,6	35,8	6	51,65	50,7
7	132,0	69,1	7	94,48	90,8
Reprodukció vizsgálat					
Na-szelenit			Na-szelenát		
Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)	Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)
K	< k.h.	< k.h.	K	< k.h.	< k.h.
2	1,19	0,37	2	0,38	0,26
3	2,35	0,80	3	0,59	0,42
4	5,08	1,62	4	1,09	0,82
5	9,96	3,51	5	2,11	1,86
6	20,55	8,19	6	4,79	4,79
7	43,95	19,95	7	10,15	10,01

K: Kontroll talaj

„összes”: $\text{ccHNO}_3 + \text{ccH}_2\text{O}_2$ oldható Se - kimutathatósági határ (k.h): 0,6 mg/kg

„felvehető”: NH_4 -acetate + EDTA oldható Se - kimutathatósági határ (k.h): 0,12 mg/kg

8. táblázat: A karcagi talajon, a laborkísérletek során alkalmazott Se koncentrációk

Na-szelenit			Na-szelenát		
Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)	Nr.	„összes” (mg/kg)	„felvehető” (mg/kg)
K	< k.h	< k.h	K	< k.h	< k.h
2	8,39	2,50	2	1,66	1,55
3	17,14	5,94	3	3,42	2,56
4	31,32	13,10	4	5,77	5,33
5	62,94	32,19	5	12,9	12,35
6	107,70	59,28	6	24,8	24,5
7	136,10	80,16	7	31,9	31,5

K: Kontroll talaj

„összes”: $\text{ccHNO}_3 + \text{ccH}_2\text{O}_2$ oldható Se - kimutathatósági határ (k.h): 0,6 mg/kg„felvehető”: NH_4 -acetate + EDTA oldható Se - kimutathatósági határ (k.h): 0,12 mg/kg

A nagyhorcsöki talaj esetében (7. táblázat) a mortalitási és a reprodukciós vizsgálatoknál alkalmazott eltérő koncentrációt, a kísérletek során – ezen a talajon – a különböző életkorú egyedek esetében tapasztalt nagyfokú érzékenységbeli különbség indokolta.

Az előkészített talajra 10 kifejlett állatot helyeztünk, majd az edényeket lezártuk. A dobozokat fénymentes termosztátban, 18°C-os hőmérsékleten, 60 %-os páratartalom mellett random módon helyeztük el. Egy kísérlet 42 napig tartott. Ez idő alatt hetente egyszer ellenőriztük a kísérleti edények állapotát, a talajok nedvességtartalmát és etettük az állatokat. A 6 hét letelte után, az ERT által eredetileg javasolt alkoholos előlés és festés helyett, O'Connor által először az 1960-as években alkalmazott vizes-tölcséres futtatást alkalmaztam (O'Connor 1962). A változtatások lényege, hogy nagyobb lukméretű, közönséges háztartási boltban kapható szűrőket használva (5. kép), a mintákat kb. 30 cm-es távolságból normál íróasztal lámpákkal, negyven wattos égőkkel világítottuk meg (6. kép). A módszertani változtatás előnye, hogy az alkoholos előléssel és a festéssel szemben nem alkalmaz vegyszereket. Az állatok kinyerésekor azok aktív mozgására, a fény és meleg előli menekülésére alapoz, így a statisztikai értékelésben ténylegesen csak a kísérleti idő végéig életben maradt állatok szerepelnek. A megvilágítással, homogén laboratóriumi talajminta esetén a kifuttatás két órát vesz igénybe. A futtatás után, a tölcsérekből leengedett vizet plankton hálón átszűrtük, tovább tisztítva a mintát. Ezt követően a hálóban maradt állatokat egy osztott aljú petricsészébe mos-tuk és megszámloltuk őket, külön felírva a kifejlett és külön a fiatal egyedek számát (7.-8. kép).



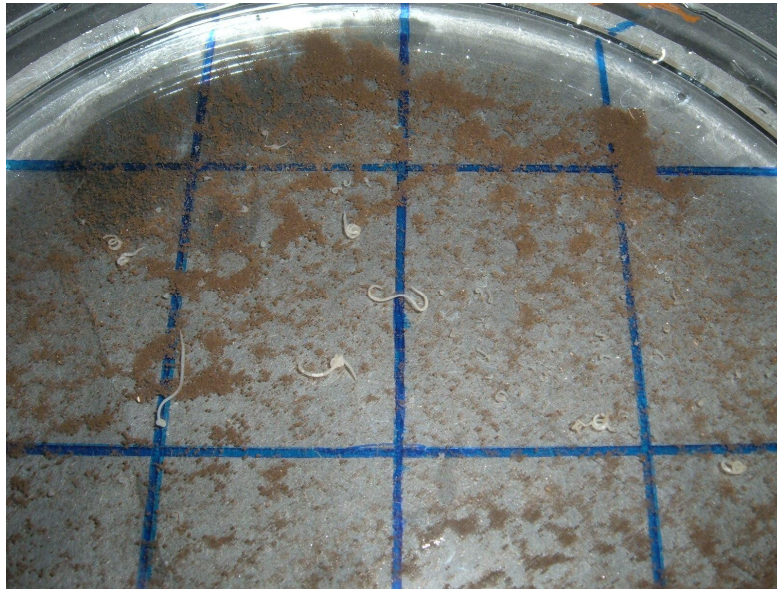
5. kép: O'Connor-féle tölcséres futtatás kellékei



6. kép: O'Connor-féle tölcséres futtatás



7. kép: A kísérlet „eredményének” számszerűsítése



8. kép: A kísérlet lebontását követően életben maradt egyedek

Az MTA, Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet ICP Laboratóriumának segítségével vizsgáltuk az „összes” ($\text{ccHNO}_3 + \text{cc H}_2\text{O}_2$ oldható Se) és a „felvehető” (NH_4 -acetate + EDTA oldható Se) szeléntartalmak egymáshoz való viszonyát a különböző talajtípusokon és hogy miként változott a talajok szeléntartalma a kísérlet ideje alatt.

3.4. Az eredmények statisztikai értékelése

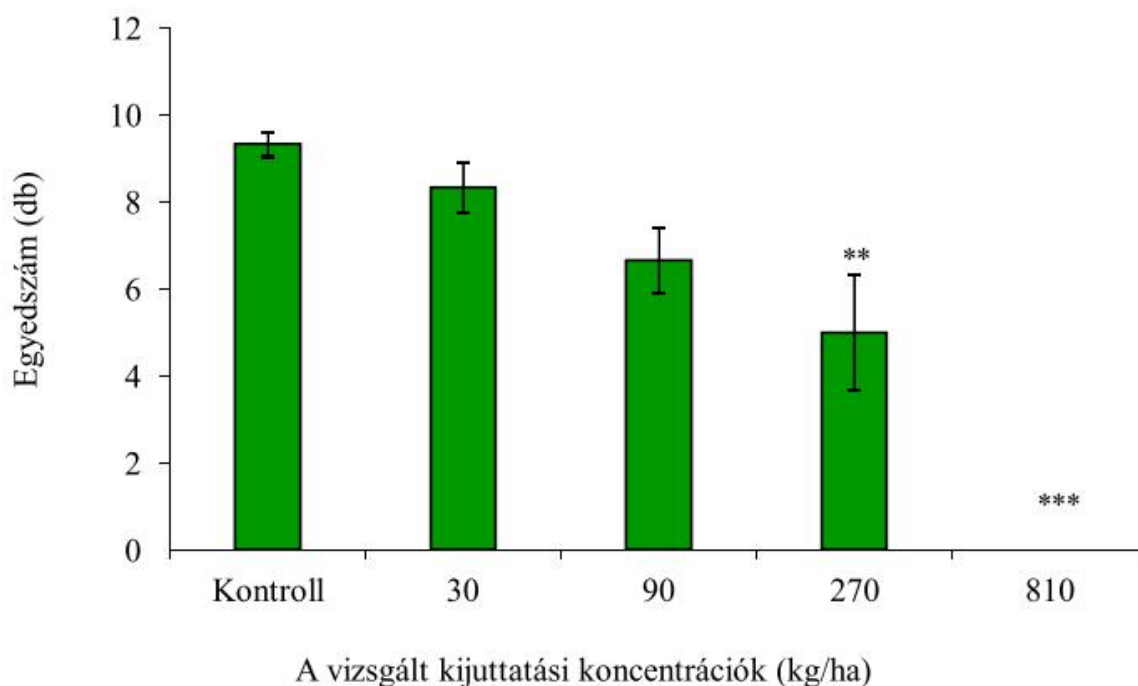
A kísérletek végpontjai a mortalitás és reprodukciós értékek voltak. A kapott adatokból LC_{50} , EC_{50} , LC_{10} , EC_{10} és NOEC (még nem ható vizsgált koncentráció) értékeket számoltunk ki a ToxRat Light 2.08 (ToxRat) szoftverrel. A tesztek elvégeztük, mind az összes, mind a felvehető elemtartalomra vonatkoztatva. A programot kifejezetten öko toxicológiai biotesztek statisztikai kiértékeléséhez fejlesztették ki. A tesztek kétoldalú próbákkal, 5%-os szignifikancia határt megadva végeztük el. Első lépésként egy utas ANOVA analízissel a hatás meglétét, vagy hiányát állapítottuk meg. Ezt követően a Chocran's test segítségével az adatok homogenitását határoztuk meg. A NOEC érték megállapításához, amennyiben az adatok homogén eloszlást mutattak Williams féle többszörös, szekvenciális t-tesztet végeztünk. Inhomogén eloszlás esetén Welch féle t-tesztet végeztünk Bonferroni korrekcióval. Az EC_x , LC_x értékeket probit analízissel határoztuk meg.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. A mikroelem hatástartam vizsgálat eredményei

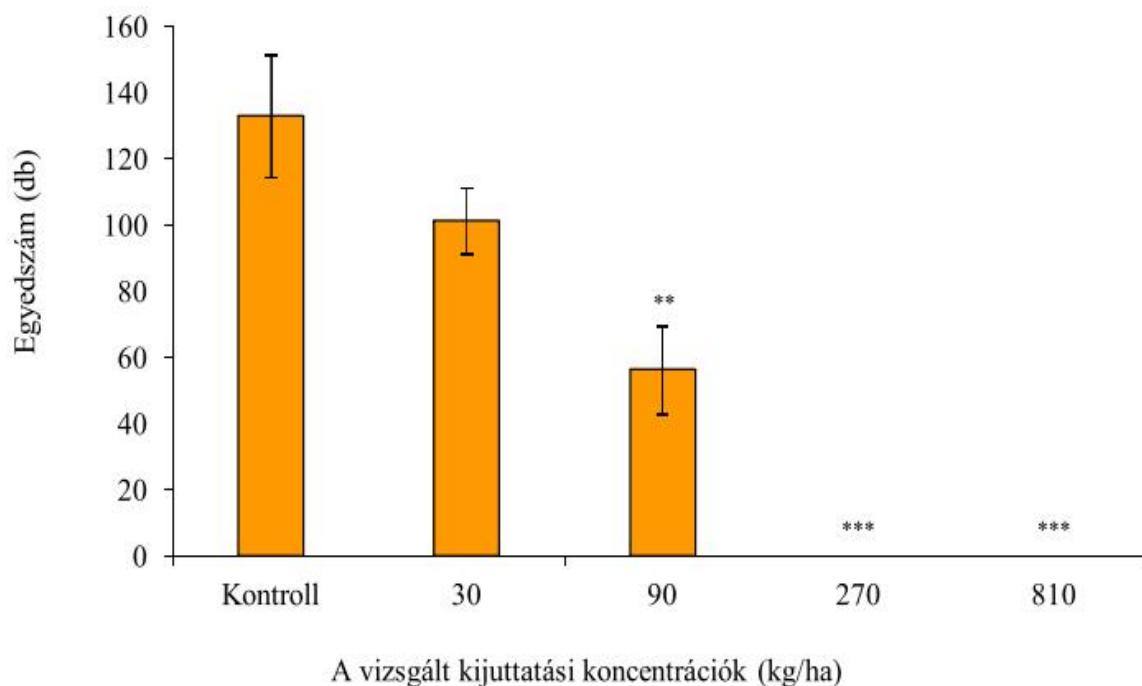
4.1.1. Szelén vizsgálata

Kimutatható hatást tapasztaltunk, mind a kifejlett (adult) állatok, mind a fiatalok (juvenilis) körében. A kontroll talajminta eredményeihez képest már a legkisebb szennyezési szinten (30kg/ha) létszám és szaporulat csökkenést tapasztaltunk, ami a szennyezési koncentráció növekedésével (90kg/ha, 270kg/ha, 810kg/ha) egyre erőteljesebbé vált. Ez olyan mértékig fokozódott, hogy a 270kg/ha szelénrel szennyezett talajban a nagymértékű kifejlett állat pusztulás mellett szaporulatot nem tudtunk kimutatni. Az ennél erősebb szennyezettségi szinten (810kg/ha) pedig a kísérlet hatodik hete után, már egyáltalán nem találtunk élő egyedet. A lebontás adatait az 5.-6. ábrák szemléltetik.



5. ábra Hét évvel a kijuttatást követő szelén szennyezés hatása a mortalitásra, a 6 hetes kísérletet követően, nagyhőrcsöki csernozjom talajon. **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

A kifejlett (adult) állatok mortalitását vizsgálva, az elemzés kimutatta, hogy a 810kg/ha-os és a 270kg/ha szennyezés mellett szignifikánsan kevesebb adult állat volt a kontrollhoz képest. A varianciaanalízis eredményei: $F=18,379$ (ANOVA $p=0,0001$), vagyis a kezeléseknél jelentős, erősen szignifikáns hatása volt az eredményekre. Az alacsonyabb koncentrációkban értékelhető különbséget a kontroll illetve a szennyezett talajok hatásai között – a kijuttatást követő hét éves időtávlat után – nem tudtunk kimutatni.

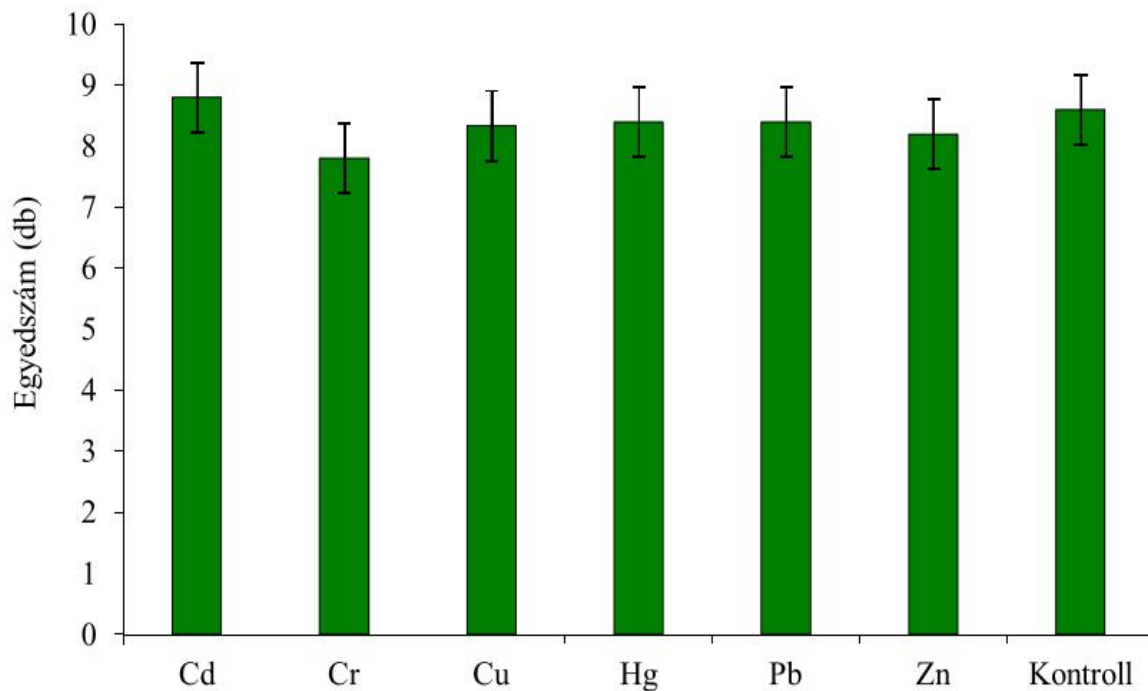


6. ábra Hét évvel a kijuttatást követő szelén szennyezés hatása a reprodukciós képességre, a 6 hetes kísérletet követően, nagyhőrcsőki csernozjom talajon **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

A reprodukciós képesség, a fiatal állatok (juvenilis) egyedszám változása még erősebb hatást igazolt. Az eredményeket elemezve megállapítható, hogy az eredetileg legalacsonyabb (30kg/ha) kezelés – a kijuttatást követő hét évvel – szignifikáns hatást már nem eredményezett, ugyanakkor valamennyi magasabb koncentrációban értékelhető hatáskülönbséget kaptunk. A 90kg/ha-os terhelési szint mellett statisztikailag is igazolhatóan kevesebb fiatal állat volt a kontrollhoz képest. A 270kg/ha és a 810kg/ha kezelések talajában pedig egyáltalán nem volt juvenilis állat. A varianciaanalízis eredményei: $F=21,621$ (ANOVA $p=0,0000$), ami – a mortalitás vizsgálatához hasonlóan – szintén jelentős, erősen szignifikáns hatást jelent.

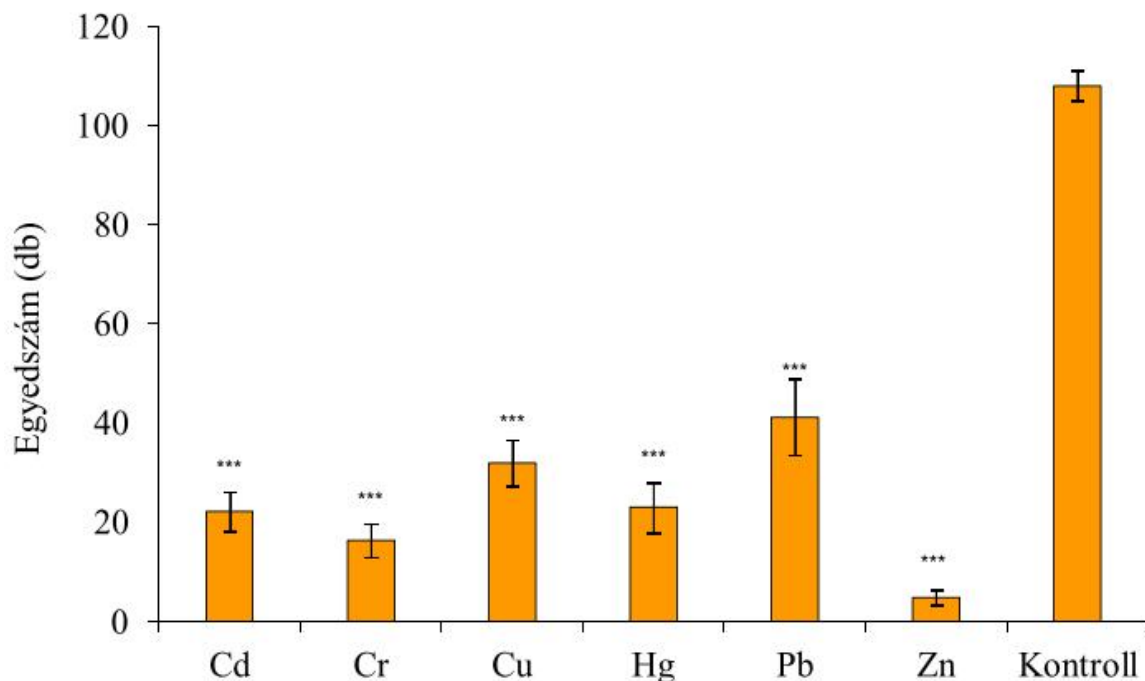
4.1.2. Nehézfémek vizsgálata – 810kg/ha kijuttatott hatóanyagtartalom

A 6 hetes kísérleti időtartam után azt tapasztaltuk, hogy a kifejlett (adult) állatok mortalitására a vizsgált nehézfémeknek, hét évvel a kijuttatásukat követően – ilyen koncentrációban – nincsen kimutatható hatásuk. A fiatal állatok tekintetében a kontroll talajmintán kapott eredményekhez képest valamennyi nehézfém esetében jelentős egyedszám csökkenést tapasztaltunk. A reprodukciós képességet a vizsgált nehézfémek közül legdrasztikusabb módon a cink (Zn) befolyásolta. A kísérletek végeredményeinek adatait 7. –8. ábrák szemléltetik.



7. ábra A kifejlett (adult) állatok egyedszámának alakulása hét évvel a kijuttatást követően, nagyhorcsóki csernozjom talajon a különböző fémekkel, 810kg/ha-os mennyiségben szennyezett talajokban és a kontroll talajban, a 6 hetes kísérleti időszakot követően.

A kifejlett (adult) állatok mortalitását vizsgálva a kísérlet eredményei azt mutatták, hogy az általunk kiválasztott nehézfémek, a legmagasabb kijuttatási koncentrációban (810 kg/ha) hét évvel a kijuttatást követően érdemben nem befolyásolták a tesztállat (*E. albidus*) kifejlett egyedeinek túlélését. A varianciaanalízis eredménye: $F=0,28$ (ANOVA $p=0,943$) sem mutat szignifikanciát.

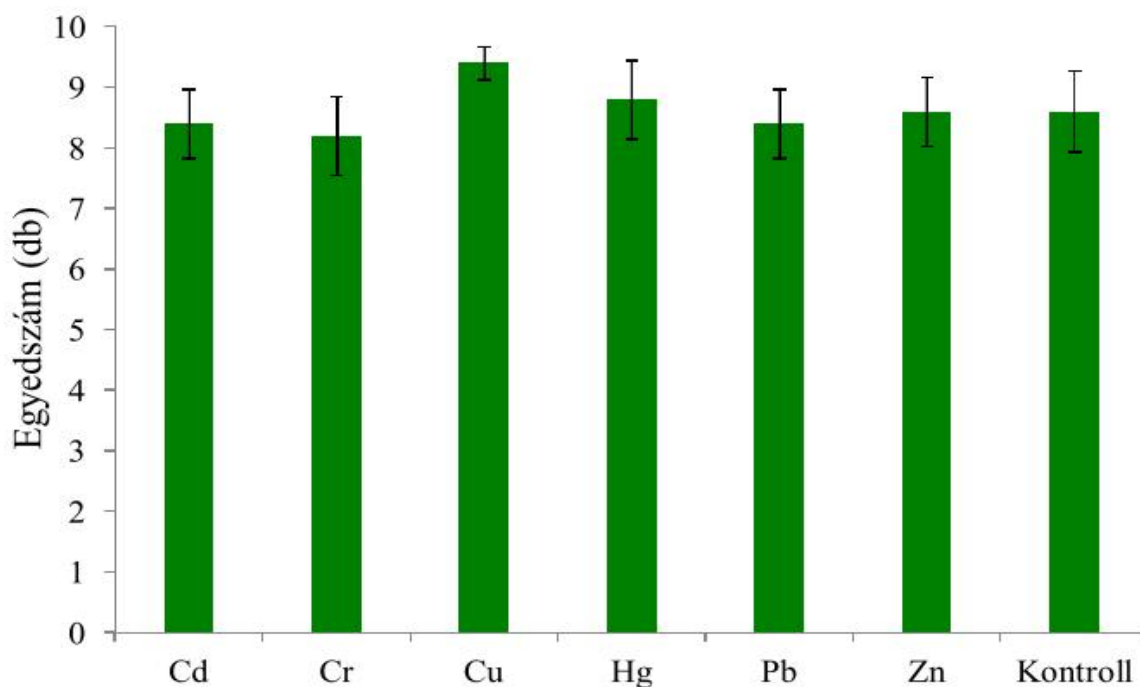


8. ábra A fiatal (juvenilis) állatok egyedszámának alakulása hét évvel a kijuttatást követően, nagyhorcsóki csernozjom talajon a különböző fémekkel, 810kg/ha-os mennyiségben szennyezett talajokban és a kontroll talajban, a 6 hetes kísérleti időszakot követően ***: $p < 0,001$

A reprodukciós képesség, a fiatal állatok (juvenilis) egyedszám változása ugyanakkor erősen szignifikáns hatást igazolt. Az eredményeket elemezve megállapítható, hogy a legmagasabb kijuttatás kori koncentrációt (810kg/ha) vizsgálva – a kijuttatást követő hét évvel – valamennyi nehézfém szignifikánsan csökkentette a fiatal állatok egyedszámát. A varianciaanalízis eredményei: $F=11,628$ (ANOVA $p=0,0001$).

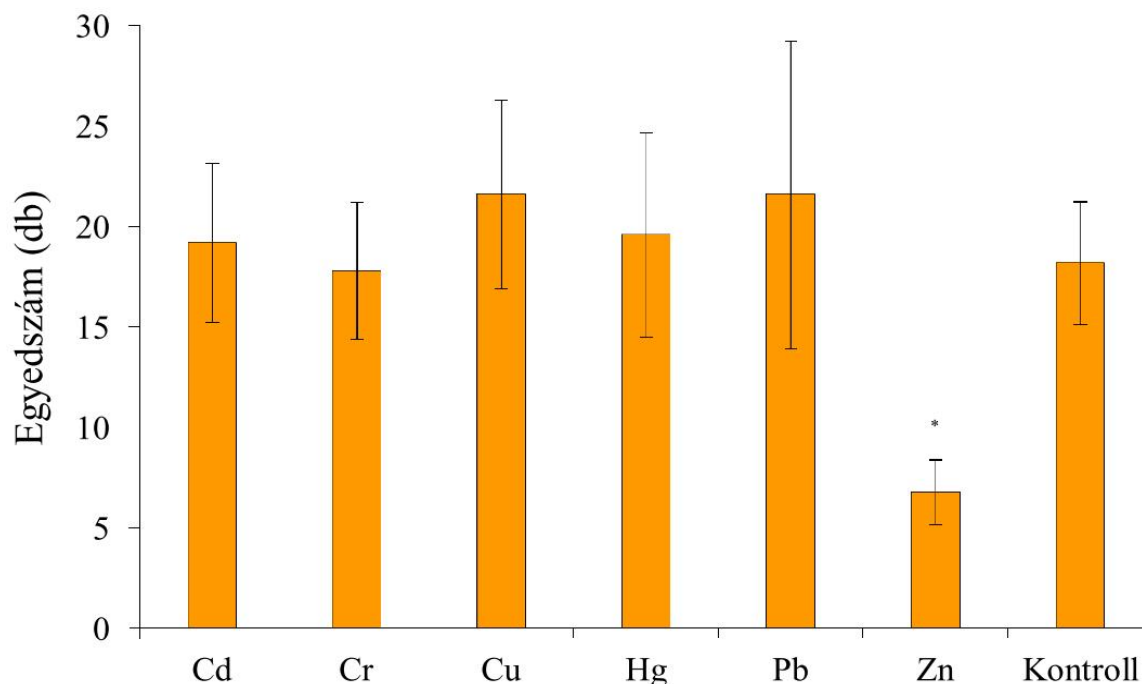
4.1.3. Nehézfémek vizsgálata – 270kg/ha kijuttatott hatóanyagtartalom

A kiválasztott nehézfémek döntő többsége a második kijuttatási koncentrációban (270kg/ha) – hét évvel a kijuttatást követően – a teszttalajokon sem a mortalitásban, sem a reprodukciós képességben értékelhető változást nem okozott. Egyedüli kivétel a cink (Zn), amely ebben a koncentrációban a mortalitásra ugyan úgy nem volt hatással, mint a többi vizsgált nehézfém, ugyanakkor nagymértékű szaporulat csökkenést eredményezett. A teszt eredményét a 9. – 10. ábrák szemléltetik.



9. ábra A kifejlett (adult) állatok egyedszámának alakulása hét évvel a kijuttatást követően, nagyhőrcsöki csernozjom talajon a különböző fémekkel, 270kg/ha-os mennyiségben szennyezett talajokban és a kontroll talajban, a 6 hetes kísérleti időszakot követően.

A kifejlett (adult) állatok mortalitását vizsgálva a kísérlet eredményei azt mutatták, hogy az általunk kiválasztott nehézfémek, a 270kg/ha-os szennyezettségi szinten, hét évvel a kijuttatást követően érdemben nem befolyásolták a teszttalaj (*E. albidus*) kifejlett egyedeinek túlélését. A varianciaanalízis eredményei: $F=0,567$ (ANOVA $p=0,752$) ami nem mutat szignifikanciát.



10. ábra A fiatal (juvenilis) állatok egyedszámának alakulása hét évvel a kijuttatást követően, nagyhőrcsöki csernozjom talajon a különböző fémekkel, 270kg/ha-os mennyiségben szennyezett talajokban és a kontroll talajban, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. *: $p < 0,05$

A 270kg/ha-os induló nehézfém terhelés – hét évvel a kijuttatást követően – a reprodukciós képességre gyakorolt hatásnak statisztikai elemzése alapján megállapítható volt, hogy szignifikáns hatással már csak a Zn rendelkezik. Csak ennek az elemnek a hatására csökkent kimutathatóan a reprodukciós képesség.

A varianciaanalízis eredményei: $F=1,553$ (ANOVA $p=0,198$).

4.1.4. A mikroelem hatástartam vizsgálat eredményeinek értékelése

A szelén vizsgálatok kapott eredmény magyarázatául szolgálhat, hogy meszes talajon nagyon mozgékonyvá válhat, ami eredményeként könnyen felvehető mind a növények, mind a táplálkozásokban valamilyen szinten ezekhez a növényekhez kötött állatok számára (Fekete 1999). A tanszéken korábban az ugróvillásokkal (*Collembola*) elvégzett toxicitási teszt a Se esetében érdekes eredményt hozott. Kimutatható volt, hogy a kis dózisban kijuttatott mikroelem, kis mértékben ugyan, de stimulálta az állatok szaporodását. Ezt követően a dózist emelve a számuk akár a nulláig is lecsökkent. Ezzel ellentétben, a mi eredményeinkkel összhangban lévő eredményt kaptak fonálféreggel szintén a nagyhőrcsöki talajon végzett kísérletek (Nagy 1999; Bakonyi et al. 2003). Ezek szerint a 90 mg/kg koncentrációban kijuttatott szelén még kimutatható, hátrányos hatással van a fonálféreg együttesek szerkezetére a kijuttatást követő hét év után is. Tehát a fonálféreg közösségi paraméte-

rei és a közönséges televényféreg szaporodási tesztje szerint a nagyhőrcsöki csernozjom talajon a LOEC érték egyaránt 2 mg/kg NH₄-acetát+EDTA oldható Se.

Azonos törzstenyészetből származó állatokkal, de OECD talajon elvégzett toxicitási tesztek eredményeivel összevetve az általunk tapasztaltakat megállapíthatjuk, hogy a Cd, Cu és a Pb kezelésében a NOEC és LOEC értékei lényegében véve a fellelhető irodalmi adatokkal megegyezők, a Cr és a Zn viszont lényegesen toxikusabbnak bizonyult az általunk alkalmazott jó minőségű csernozjom talajon, mint a kevés komponensű, rossz szerkezetű OECD talajon (Lock és Janssen 2001b, 2002a, c). A nagyhőrcsöki kísérletben a nagyon mérgező Cr(VI) került alkalmazásra, de a teszt elvégzésének idejére Kádár és Pálvölgyi (2003) adatai szerint döntő többségében vagy Cr(III)-á alakult, vagy kilugzódott a szántott rétegből. Ennek ellenére toxikus hatásúnak bizonyult az *E. albidus* fajjal végzett laboratóriumi tesztben. Figyelemre méltó, hogy ugyanez a krómmal szennyezett talaj, terepi vizsgálatok szerint, szintén toxikus hatást gyakorolt a szabadon élő fonálféreg együttesekre is (Bakonyi et al. 2003).

Jelenleg nem tudjuk, hogy a Cr és a Zn miért toxikusabb az *E. albidus*-ra egy jó minőségű talajon, mint az OECD talajon. Különösen a Cr esetében nagy a különbség, amikor az irodalmi és a kísérlet beállításának időpontjában a nagyhőrcsöki talajon mért adatok összevetéséből kiderül, hogy az „összes” króm messze elmaradt az OECD kísérletben alkalmazott mennyiségtől. A különbség esetünkben három nagyságrend.

A kapott eredményeket összehasonlítva a tanszéken más szervezetekkel elvégzett toxicitási tesztek eredményeivel, szintén ki kell emelnünk a cinket. Az ugróvillásokkal elvégzett szabadföldi toxicitási tesztben ennek az elemnek a legmagasabb koncentrációban sem sikerült a reprodukciós rátát befolyásoló hatását kimutatni, míg a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) esetében ez szignifikánsan már a harmadik szintnél jelentkezett. Érdekesség továbbá, hogy amíg a legtöbb nehézfém esetében (Cd, Cr, Cu, Pb) a legmagasabb koncentrációra az ugróvillások egyedszám csökkenéssel (esetenként azzal sem) reagáltak, addig a televényférgek, kivétel nélkül minden nehézfém (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) esetén a reprodukciós képesség csökkenésével válaszoltak.

Mind a szelén, mind a nehézfémekkel végzett toxikológiai vizsgálatok igazolták, hogy az *E. albidus* mortalitása a reprodukciós képesség változásánál kevésbé érzékeny paraméter a talajt szennyező mikroelemek hatásainak kimutatására. Ez a megállapítás összecseng más talajlakó állatokkal végzett toxicitási tesztek eredményeivel (Fischer et al. 1997; Hornung et al. 1998). Különösen érdekes lehet azonban e megállapítás annak tükrében, hogy további irodalmi adatok viszont arra utalnak, hogy a hosszabb ideig fémterhelésnek kitett ugróvillások képesek alkalmazkodni a megváltozott környezethez és a toxicitást, megnövelt szaporodási rátával próbálják kompenzálni (Fekete 1999).

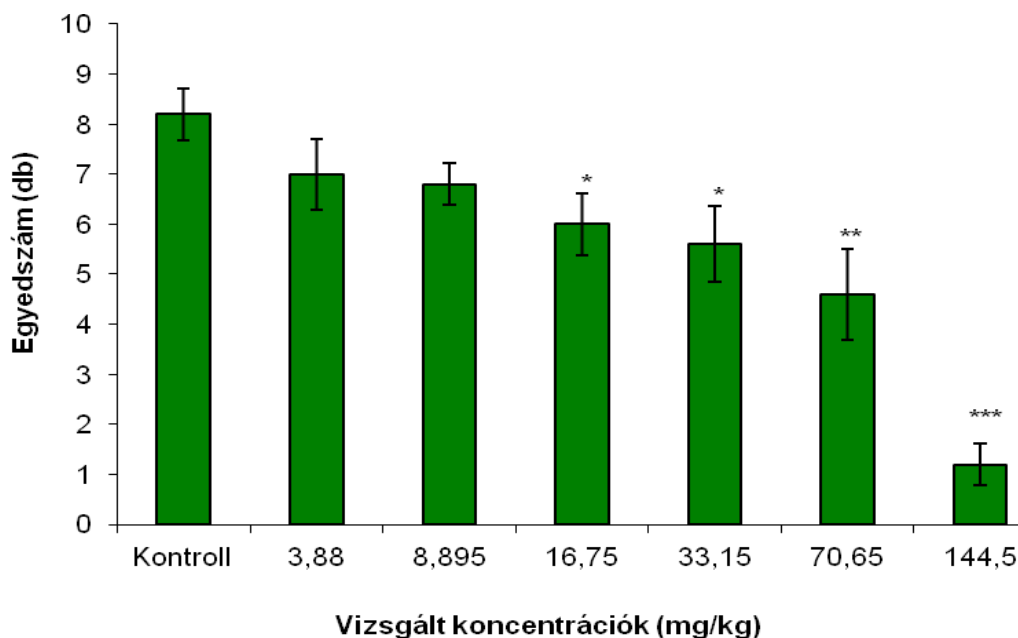
Kísérletünk eredményei felhívják a figyelmet az ökotoxicitási tesztek fontosságára. Reális, ökológiai szempontból is releváns szennyezettségi határértékek megállapításához a hagyományos eljárásokon túl, a teljes életközösséget, vagy legalább azok reprezentáns képviselőit érintő, ökotoxicitási vizsgálatok elvégzésére van szükség.

4.2. Különböző szelénformák akut hatásvizsgálatának eredményei

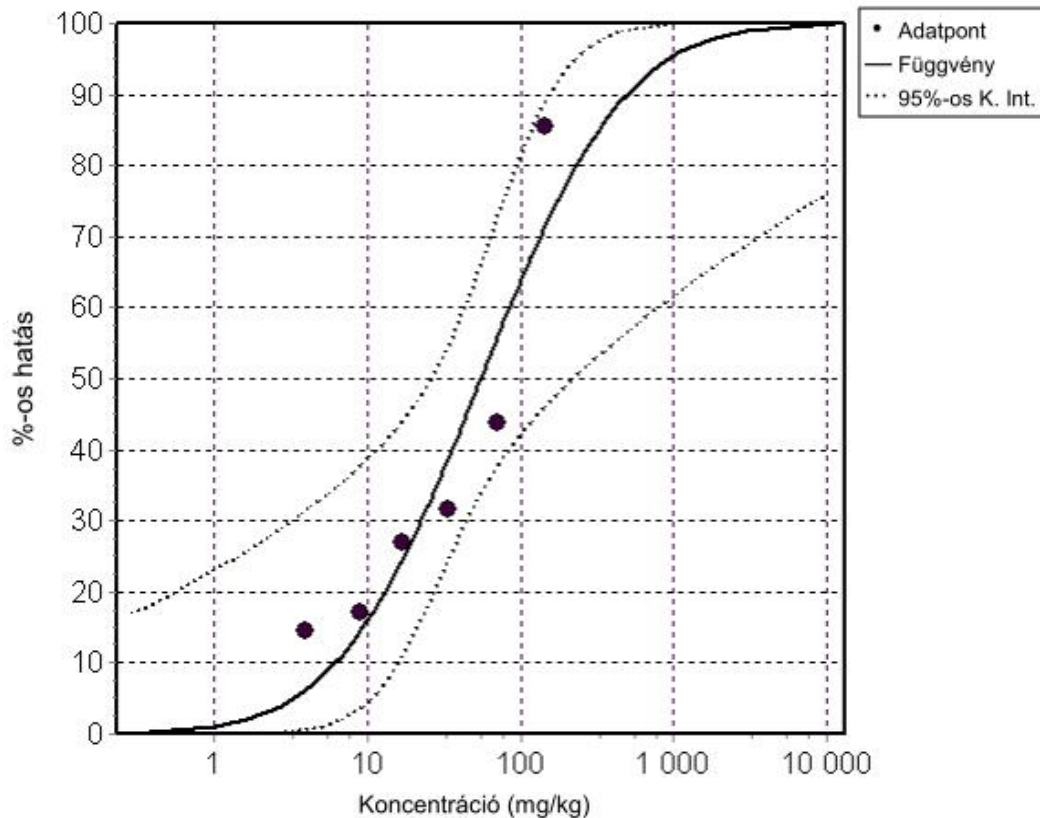
4.2.1. Kompolti talajon végzett kísérletek eredményei

Na-szelenit

A kísérlet folyamán a talajokra kijutatott oldatok elemtartalmát vizsgálva megállapítható hogy, a kezelés az állatok mortalitására erős szignifikáns hatást eredményezett (11. ábra). Az életben maradt állatok aránya a legnagyobb koncentrációval kezelt talajokban 14,6%-ra csökkent (ANOVA $p < 0,001$). A NOEC értékét a program 8,89 mg/kg-ban határozta meg. A probit analízis (12. ábra) eredményeként az LC₁₀ érték 6,13 mg/kg, az LC₅₀ érték 55,13 mg/kg.

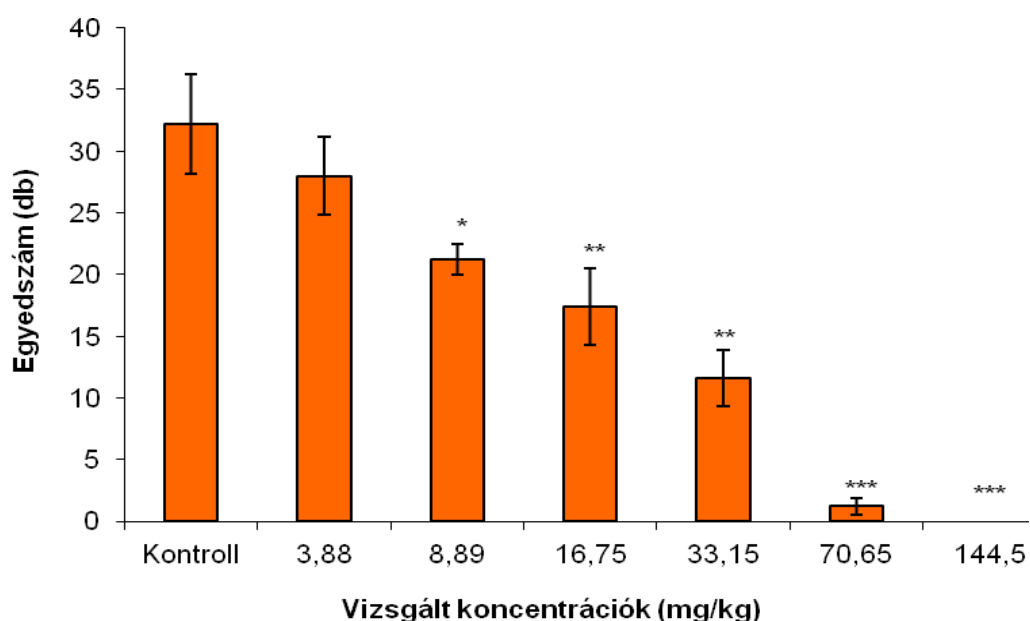


11. ábra: Na-szelenit hatása kompolti talajon a közönséges televényféreg mortalitására, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

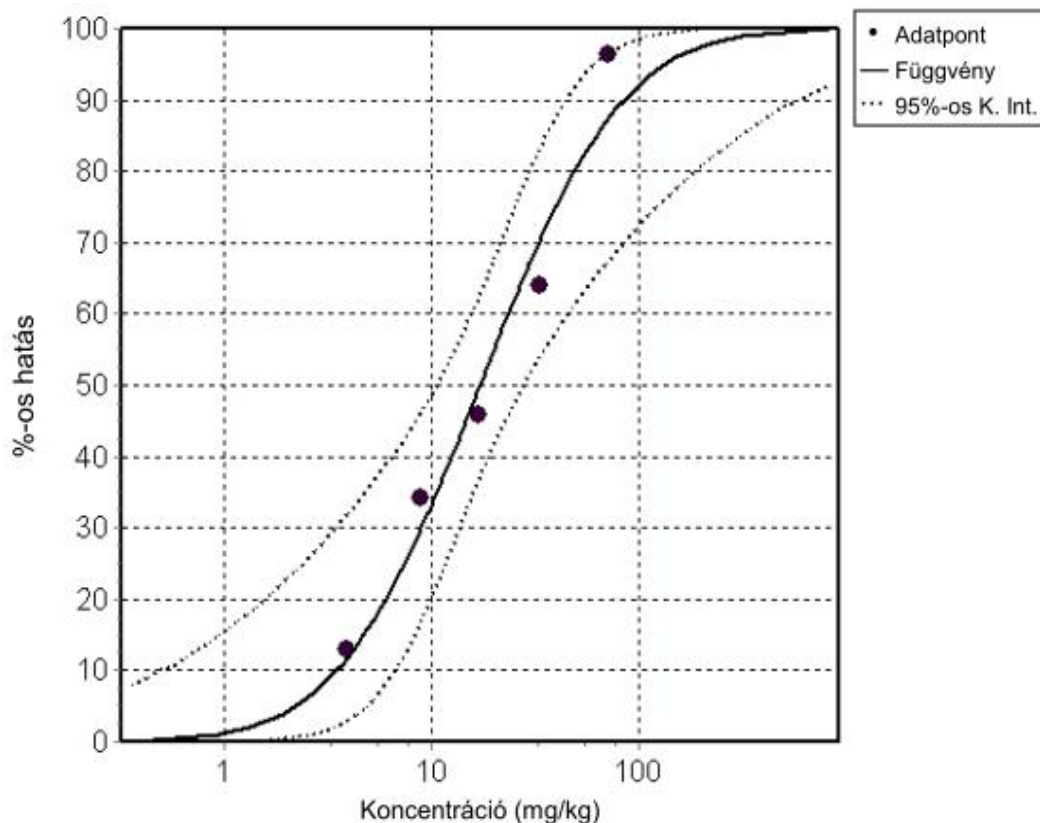


12. ábra: Na-szenit kijuttatási koncentrációjának mortalitásra gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a komolti talaj vizsgálatokor

A vizsgált elem reprodukcióra vonatkoztatott hatása erősebb (13. ábra). A legmagasabb koncentrációval kezelt talajokban a fiatal egyedek száma nullára csökkent (ANOVA $p < 0,001$). Reprodukció esetében a program a NOEC értékét 3,88 mg/kg-ban határozta meg. A probit analízis (14. ábra) eredményeként az EC_{10} érték 3,44 mg/kg, az EC_{50} érték 17,06 mg/kg.



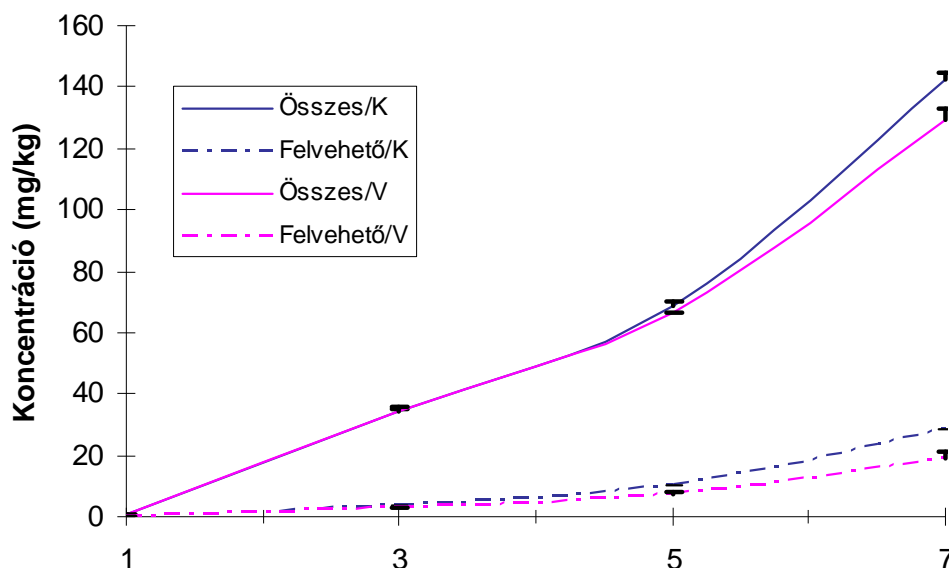
13. ábra: Na-szenit hatása komolti talajon a közönséges televényféreg reprodukációs képességére, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$



14. ábra: Na-szenit kijuttatási koncentrációjának reprodukciós képességre gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a kompolti talaj vizsgálatokor

A felvehető elemtartalom okozta hatások bemutatása előtt, érdemes megvizsgálni, hogy ezen a talajon miként is alakult az összes és a felvehető szeléntartalmak egymáshoz viszonyított aránya. Ezeket nagyon jól magyarázza a 15. ábra. Ezen és a további hasonló ábrákon (20. 25. 30. 35. 40. ábrák) bár egyedi talajminták elemtartalmát vizsgáltam, a jobb szemléltetés érdekében a kapott értékeket nem pontként, hanem egyenesként ábrázoltam. A vízszintes tengelyen lévő számok minden esetben a koncentráció sornak megfelelő különböző kezelésű mintákat jelölik.

Az ábrán látható az összes és a felvehető elemtartalom közötti mennyiségi különbség. A legmagasabb koncentrációnál ezt százalékban kifejezve a következő értékeket kapjuk. A kijuttatáskor mért összes szeléntartalom 19,93 %-a volt felvehető. A lebontáskor mértnek pedig 14,46 %-a. A kísérlet időtartama alatt az össze szelén mennyisége majd 10 %-ot csökkent. Ugyanezen idő alatt a felvehető szelénmennyiség, pedig majd 35 %-ot.



15. ábra: Kompolti talajon Na-szelenit szennyezés eredményezte összes és a hozzá kapcsolódó felvehető elemtartalom a kísérletek kezdetén (Összes/K; Felvehető/K) és 6 héttel később, a kísérletek végén (Összes/V; Felvehető/V) A vízszintes tengelyen lévő számok a koncentráció sornak megfelelő különböző kezelési mintákat jelölik.

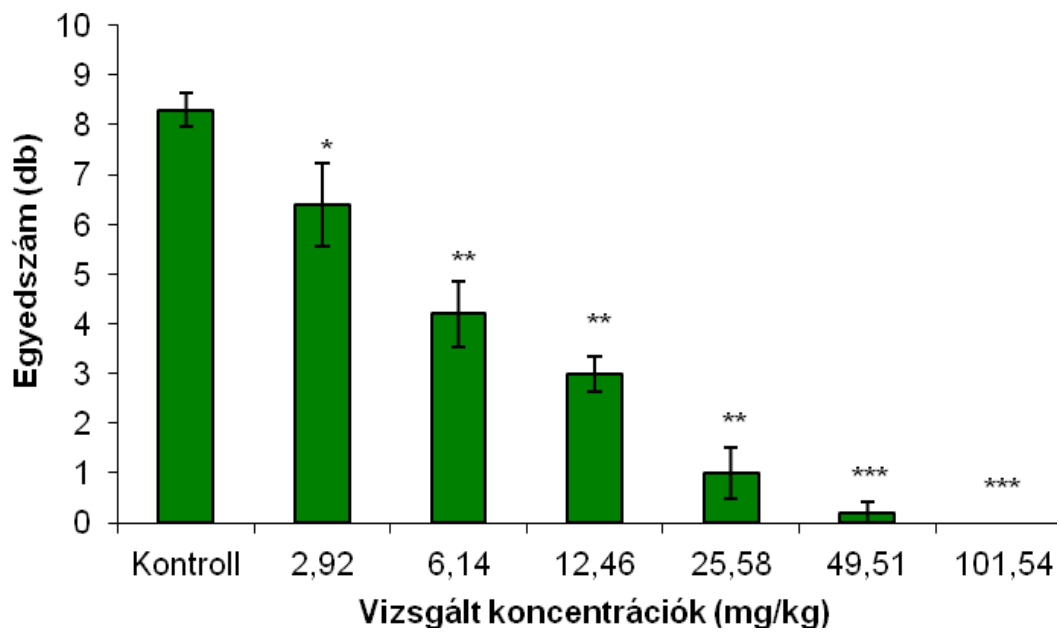
Itt is és a további talajoknál is feltüntetjük a kísérletek kezdetén és végén mért különböző elemtartalmakat, fontos azonban tudni, hogy a statisztikai vizsgálatoknál minden esetben a kijuttatás során a talajban realizálódó, tehát a kezdeti értékekkel számoltunk.

A felvehető szeléntartalom vizsgálatokor ugyanazzal az életben maradt egyedszámmal, illetve született utódszámmal dolgoztunk, mint a tesztedényekbe kijuttatott oldat (összes) szeléntartalma esetében. Értelemszerűen ezeknek a kontrollhoz mért aránya sem változott, ezért a szignifikancia viszonyok is ugyan azok maradtak

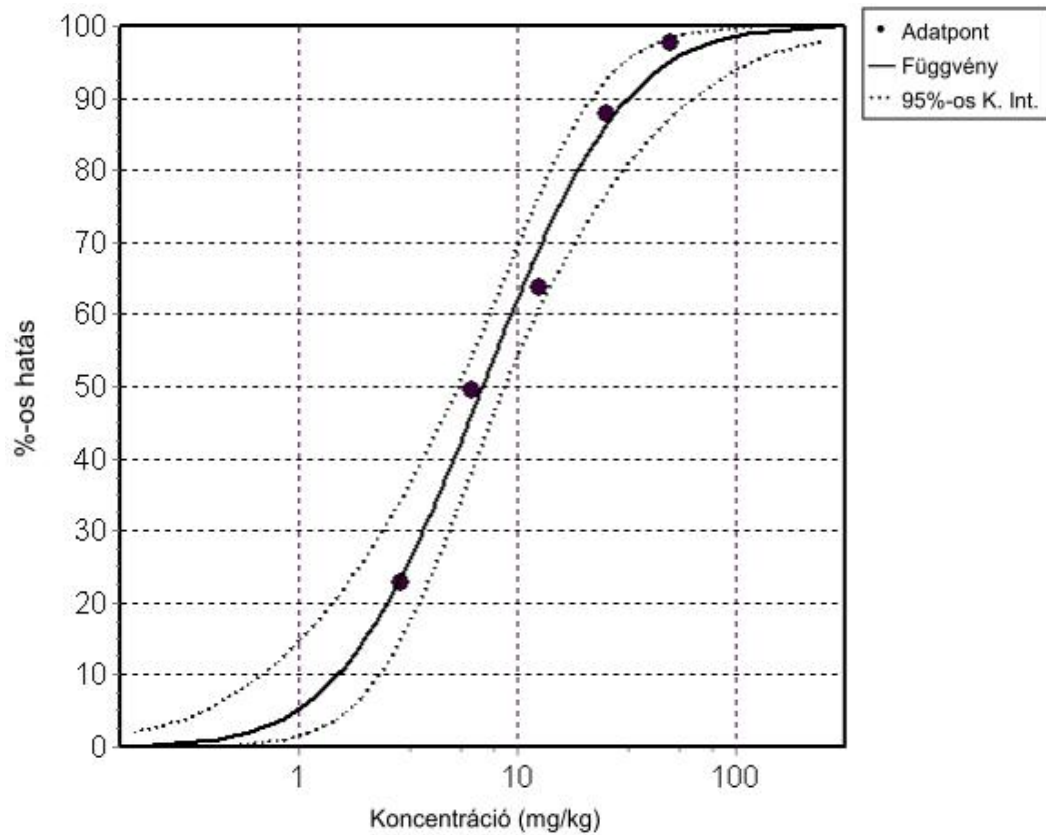
Az egyetlen, de igen komoly különbség a különböző számított és mért paraméterek koncentráció adataiban van. A mortalitásra számított NOEC érték 0,61 mg/kg. A probit analízis eredményeként az LC₁₀ érték 0,36 mg/kg, az LC₅₀ érték 7,42 mg/kg. A reprodukció vizsgálatokor kapott NOEC érték 0,26 mg/kg, míg a probit analízis eredményei, EC₁₀: 0,19 mg/kg, az EC₅₀: 1,48 mg/kg.

Na-szelenát

A kezelés hatására, a testállat mortalitása erősen szignifikáns módon nőtt (ANOVA $p < 0,001$). A legmagasabb koncentrációval kezelt talajokban nem találtunk élő állatot. A vizsgált legkisebb koncentráció is statisztikailag igazolható hatást eredményezett (16. ábra). A probit analízis (17. ábra) eredményeként az LC₁₀ érték 1,49 mg/kg, az LC₅₀ érték 6,92 mg/kg.

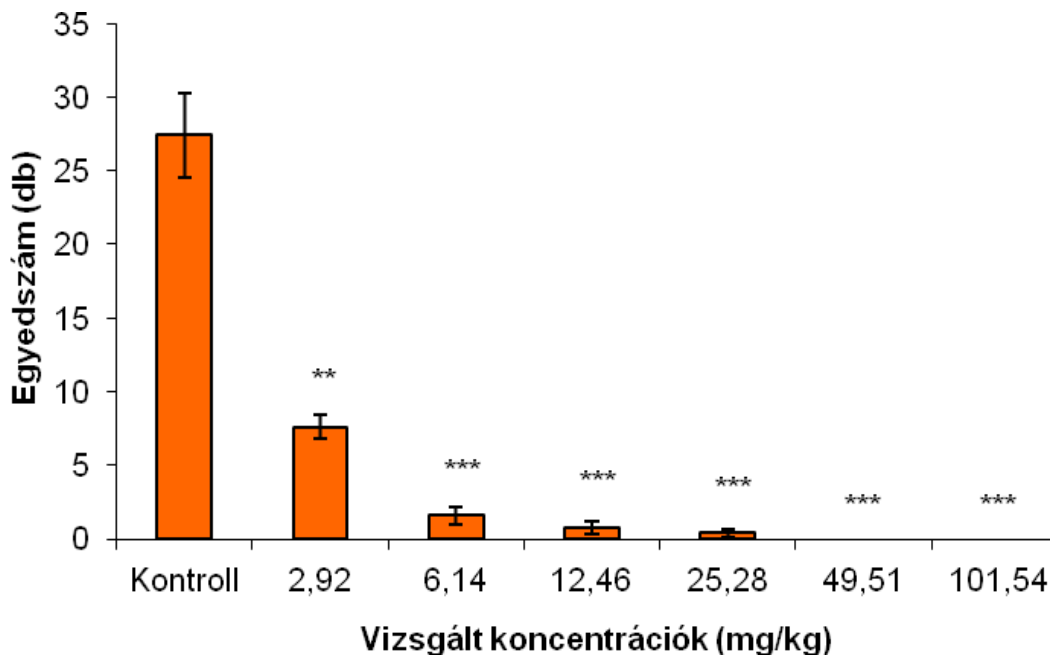


16. ábra: Na-szenenát hatása komposzt talajon a közönséges televényféreg mortalitására, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

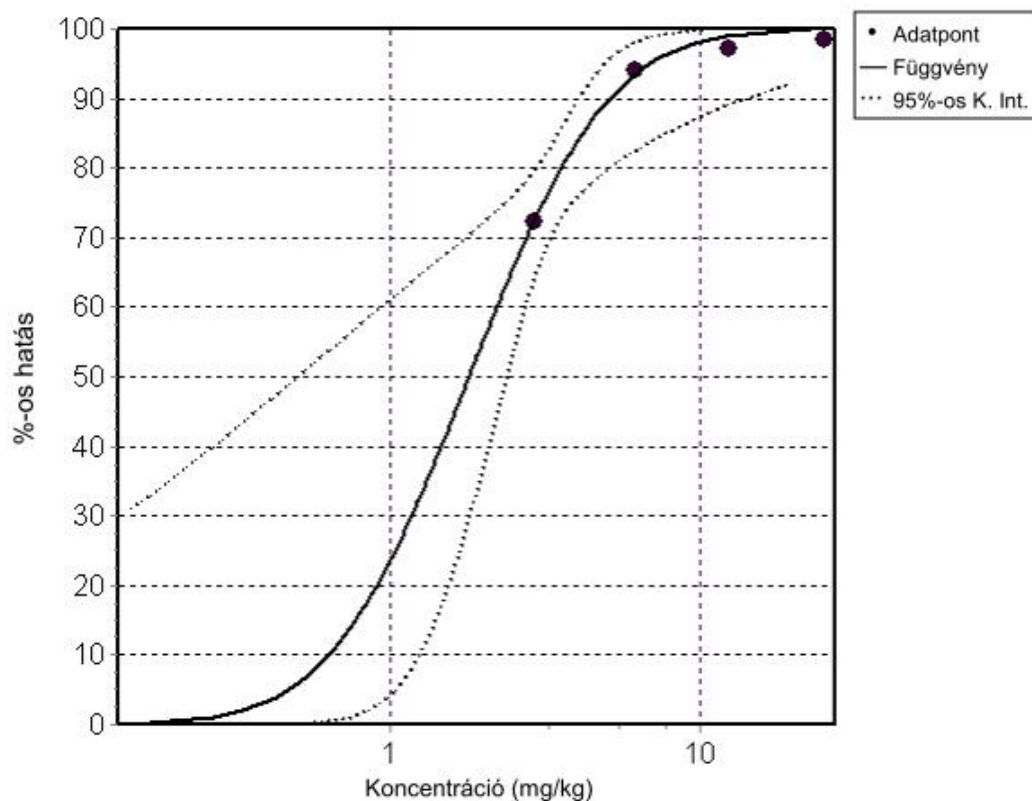


17. ábra: Na-szenenát kijuttatási koncentrációjának mortalitásra gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a komposzt talaj vizsgálatokor

A szelenát formában kijuttatott szelén reprodukcióra gyakorolt hatása erős (ANOVA $p < 0,001$) gátlásban nyilvánult meg. Sem a legmagasabb, sem az azt megelőző koncentrációval kezelt talajokban nem születtek utódok (18. ábra). Az erős hatás miatt NOEC értéket nem tudtunk meghatározni. A probit analízis (19. ábra) eredményeként az EC_{10} érték 0,63 mg/kg, az EC_{50} érték 1,79 mg/kg.

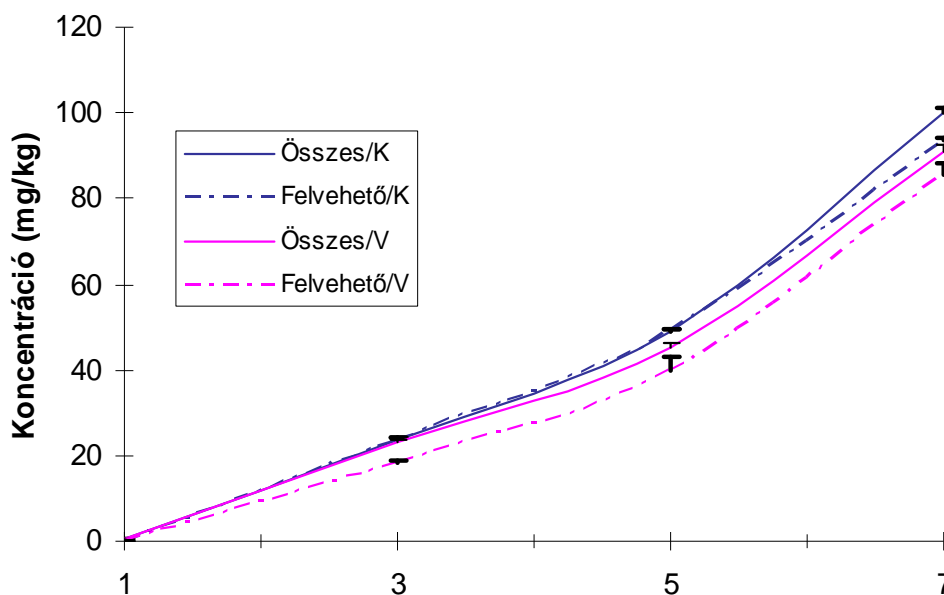


18. ábra: Na-szenenát hatása kompolti talajon a közönséges televényféreg reprodukációs képességére, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$



19. ábra: Na-szenenát kijuttatási koncentrációjának reprodukációs képességre gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a kompolti talaj vizsgálatokor

A felvehető szeléntartalom hatásának bemutatása előtt itt is vizsgáljuk meg miként alakult egymáshoz képest e két paraméter, a kísérlet kezdetén és a végén (20. ábra)



20. ábra: Kompolti talajon Na-szelenát szennyezés eredményezte összes és a hozzá kapcsolódó felvehető elemtartalom a kísérletek kezdetén (Összes/K; Felvehető/K) és 6 héttel később, a kísérletek végén (Összes/V; Felvehető/V) A vízszintes tengelyen lévő számok a koncentráció sornak megfelelő különböző kezelésű mintákat jelölik.

Az ábráról leolvasható, hogy a kijutatott összes és az abból felvehetővé váló elemtartalom között a különbség minimális. A kijuttatáskor mért összes szeléntartalom 93,27%-a volt felvehető. A lebontáskor mértnek pedig 93,85%-a. A kísérlet időtartama alatt az össze illetve a felvehető szeléntartalom egymáshoz viszonyított aránya nem változott.

Az összes és a felvehető elemtartalom ilyen szintű egyezése miatt gyakorlatilag az előzőekben leírt eredményekkel egyező számadatokat kaptunk. A NOEC értékek pontos meghatározására értelemszerűen itt sem volt lehetőség. A mortalitás vizsgálatok a probit analízis eredményeként az LC₁₀ érték 1,45 mg/kg, az LC₅₀ érték 6,69 mg/kg. A reprodukció vizsgálatok a probit analízis eredményei, EC₁₀: 0,56 mg/kg, az EC₅₀: 1,68 mg/kg.

A kompolti talajon elvégzett, teljes kísérlet sor eredményeit összefoglalva a 9. táblázat mutatja be

9. táblázat: A kompolti talajon elvégzett kísérlet sorozat összefoglaló eredményei mg/kg-ban

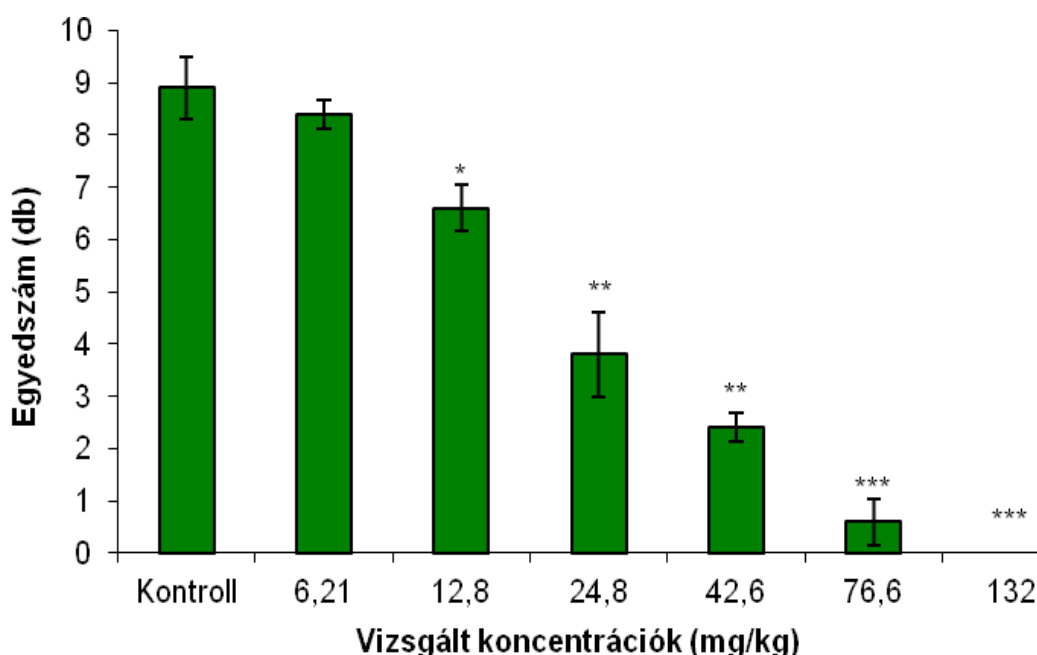
A vizsgált anyag neve	Mortalitás vizsgálat		Reprodukció vizsgálat			
	Összes	Felvehető	Összes	Felvehető		
Na-szelenit	LC ₅₀	55,13	7,42	EC ₅₀	17,06	1,48
	LC ₁₀	6,13	0,36	EC ₁₀	3,44	0,19
	NOEC	8,89	0,61	NOEC	3,88	0,26
Na-szelenát	LC ₅₀	6,92	6,69	EC ₅₀	1,79	1,68
	LC ₁₀	1,49	1,45	EC ₁₀	0,63	0,56
	NOEC	<2,92	<2,79	NOEC	<2,92	<2,79

4.2.2. Nagyhörcsöki talajon végzett kísérletek eredményei

Az eredmények bemutatásának metodikája eltér a korábban bemutatott kompolti kísérletek és a későbbiekben bemutatásra kerülő karcagi kísérletek eredményeitől. Ennek oka, hogy az irodalmi adatok és a korábban elvégzett kísérleteink eredményei alapján a mortalitásra illetve a reprodukcióra gyakorolt hatások között olyan nagy különbséget vártunk, amely indokoltá tette e két vizsgálat lényegesen eltérő szelénkoncentráció melletti elvégzését.

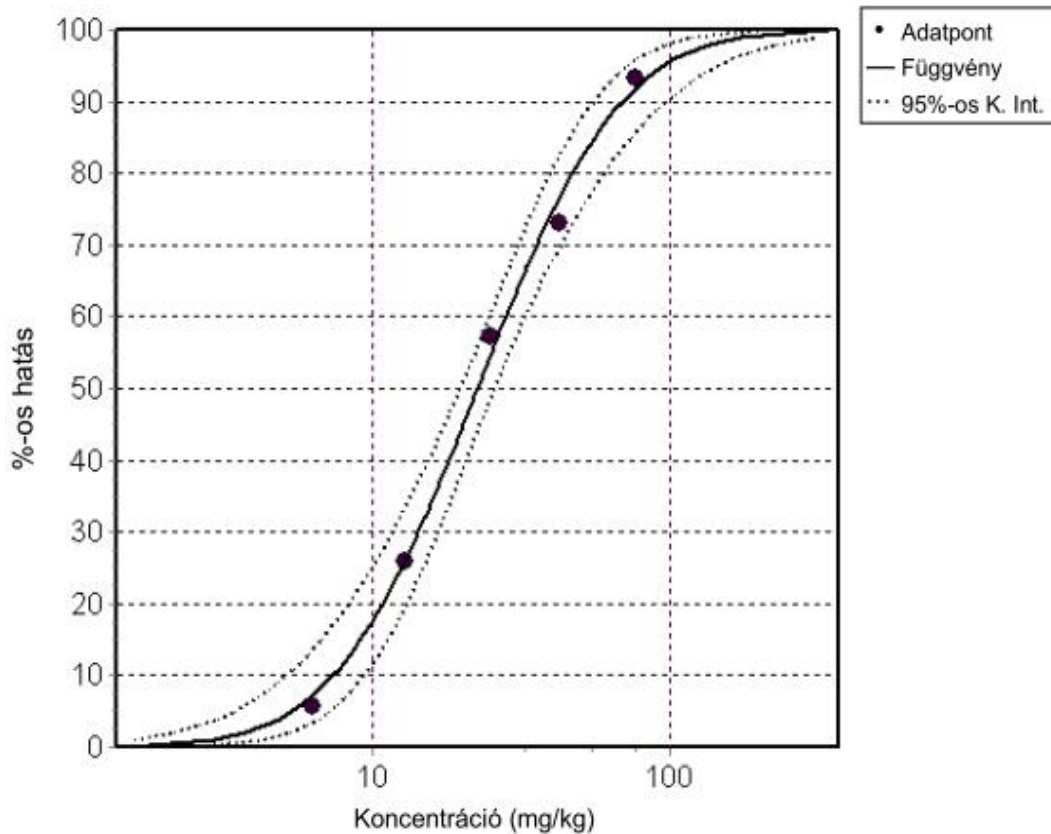
Na-szelenit

Az összes elemtartalmat tekintve, a semleges talajon, a kezelés hatására az állatok mortalitása szignifikánsan növekedett (21. ábra). A legnagyobb koncentrációjú szelénnel szennyezett talajon nem maradt életben állat (ANOVA $p < 0,001$). A NOEC értékét a program 6,21 mg/kg-ban határozta meg. A probit analízis (22. ábra) eredményeként az LC₁₀ érték 7,3 mg/kg, az LC₅₀ érték 22,5 mg/kg.



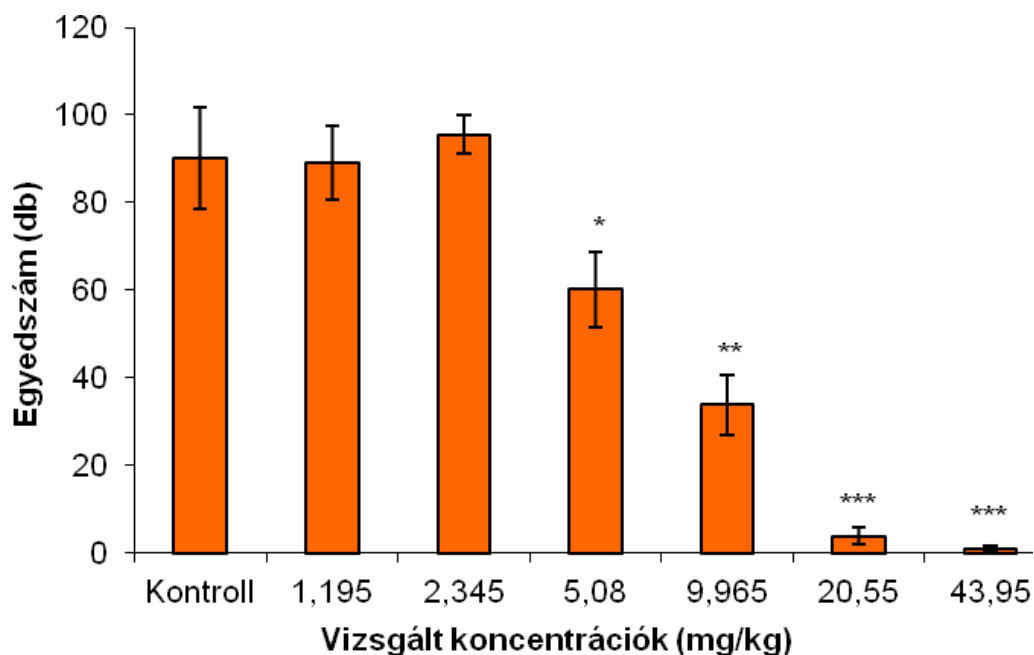
21. ábra: Na-szelenit hatása nagyhörcsöki talajon a közönséges televényféreg mortalitására, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

A szelenit formában a talajra jutott felvehető szeléntartalom mortalitásra gyakorolt hatása a következő képen alakult: NOEC értéket a program 1,83 mg/kg-ban határozta meg. A probit analízis eredményeként, az LC₁₀ érték 2,05 mg/kg, az LC₅₀ érték 8,01 mg/kg.

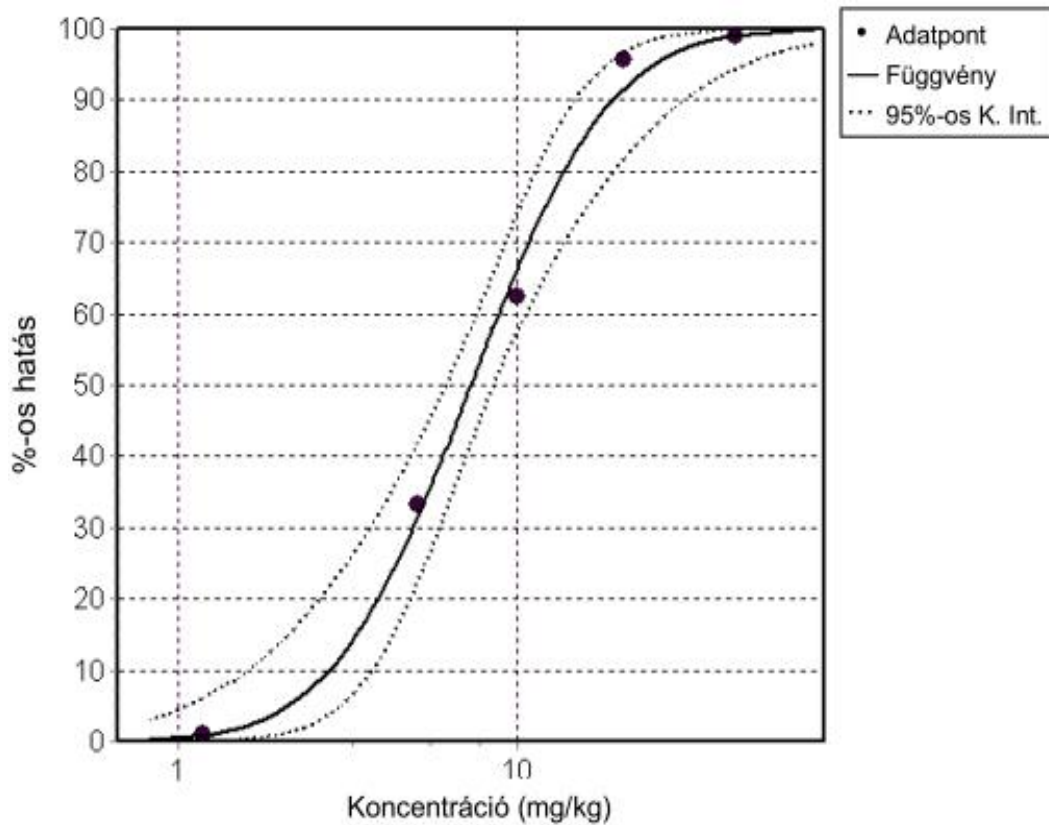


22. ábra: Na-szenit kijuttatási koncentrációjának mortalitásra gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a nagyhorcsöki talaj vizsgálatokor

A Na-szenit reprodukcióra gyakorolt hatását a 23. ábra szemlélteti. Az általunk vizsgált legmagasabb koncentrációban a született utódok száma 1,1%-ra csökkent (ANOVA $p < 0,001$). A NOEC érték 2,35 mg/kg. A probit analízis által számított EC_{10} 2,8 mg/kg, az EC_{50} 7,3 mg/kg (24. ábra).



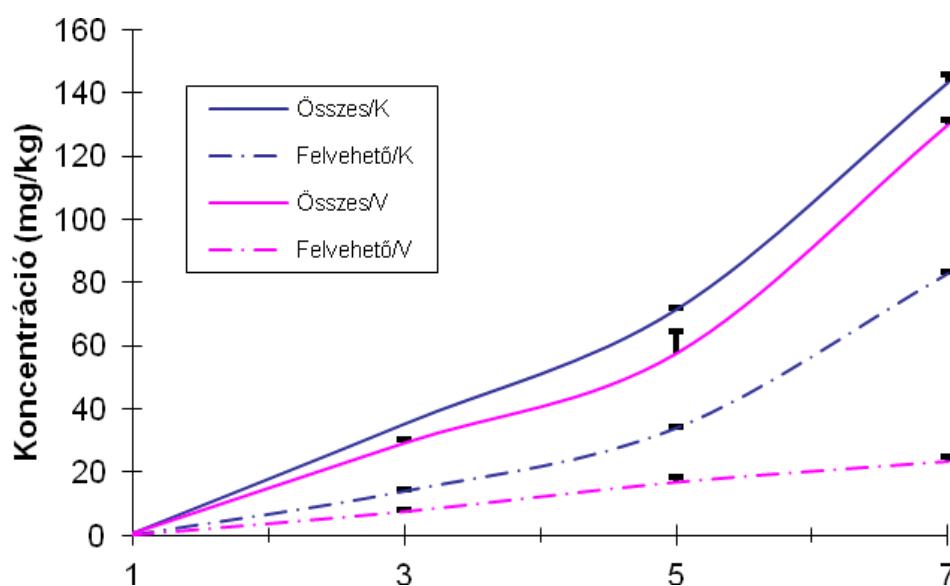
23. ábra: Na-szenit hatása nagyhorcsöki talajon a közönséges televényféreg reprodukciós képességére, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$



24. ábra: Na-szenit kijuttatási koncentrációjának reprodukciós képességre gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a nagyhorcsöki talaj vizsgálatokor

A felvehető elemtartalom hatását vizsgálva, az eredmények a következőképpen módosultak: NOEC érték 0,8mg/kg, a probit analízis által számított EC_{10} 0,82 mg/kg, az EC_{50} 2,46 mg/kg.

Természetesen ez esetben is vizsgáltuk hogyan módosult a 6 hetes kísérleti időtartam alatt a vizsgált talajunk szelénkoncentrációja (25. ábra).

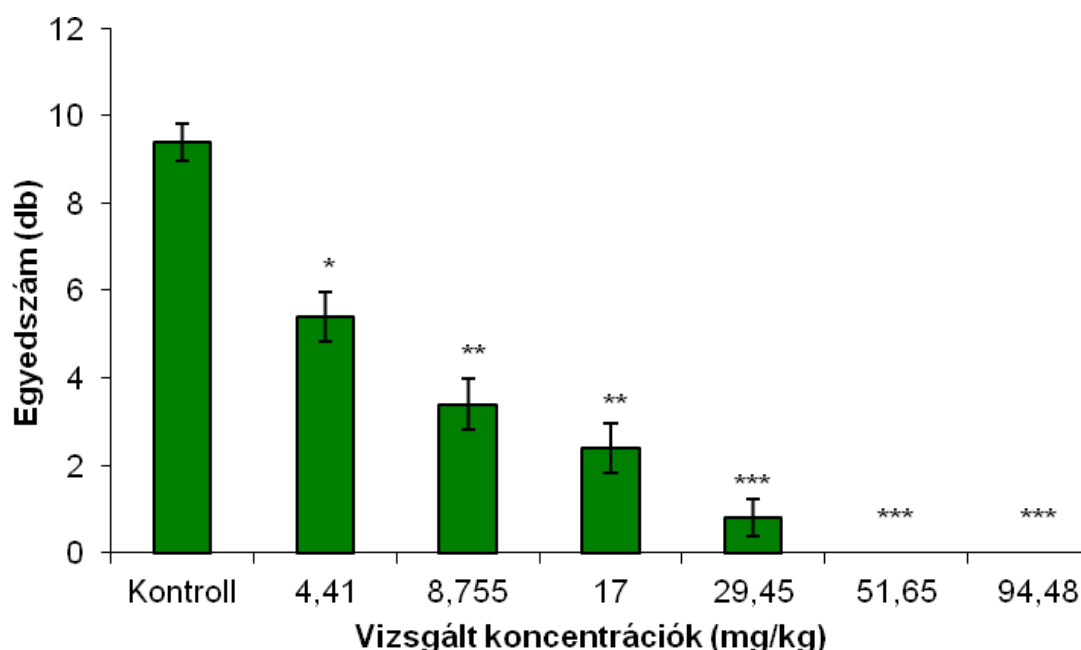


25. ábra: Nagyhorcsöki talajon Na-szenit szennyezés eredményezte összes és a hozzá kapcsolódó felvehető elemtartalom a kísérletek kezdetén (Összes/K; Felvehető/K) és 6 héttel később, a kísérletek végén (Összes/V; Felvehető/V) A vízszintes tengelyen lévő számok a koncentráció sornak megfelelő különböző kezelésű mintákat jelölik.

A grafikonon jól látható, hogy milyen nagymértékben csökkent a talajban a felvehető szeléntartalom. A kísérletek kezdetén a kijutatott szelén 57,8%-a volt felvehető. Ez az arány a vizsgálati időszak végére 17,85%-ra csökkent. Jól látható az is, hogy amíg a 6 hetes időtartam alatt az összes szeléntartalom 9,41%-ot csökkent, addig a felvehető elemtartalom ennek többszörösét, 72,03%-ot.

Na-szelenát

A nagyhőrcsöki talajra, Na-szelenát formában jutatott szelén, rendkívül erős, szignifikáns hatást fejtett ki. Nem csak a legmagasabb, de az azt megelőző koncentrációban is teljes pusztulást eredményezett tesztállatainknál (26. ábra). Statisztikailag igazolható hatás már a vizsgált első koncentrációban bekövetkezett, ezért NOEC érték meghatározására nem volt mód. A probit analízis (27. ábra) eredményeként az LC_{10} érték 0,97 mg/kg, az LC_{50} érték 5,69 mg/kg.

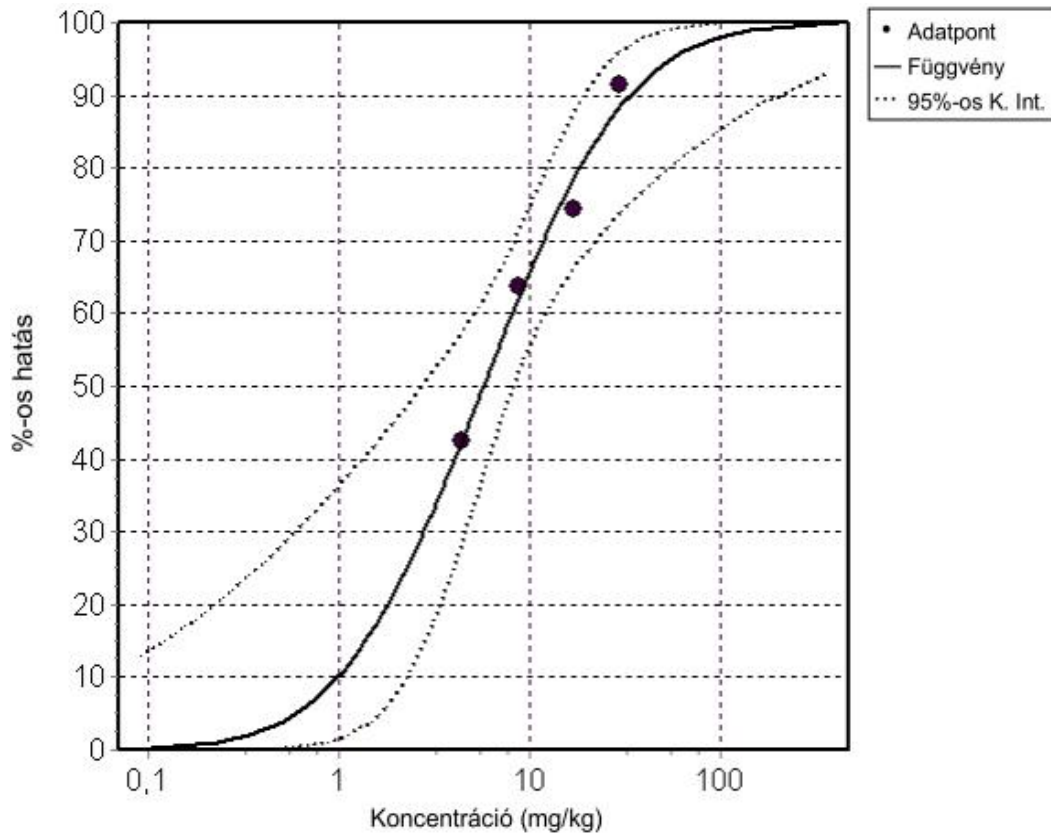


26. ábra: Na-szelenát hatása nagyhőrcsöki talajon a közönséges televényféreg mortalitására, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

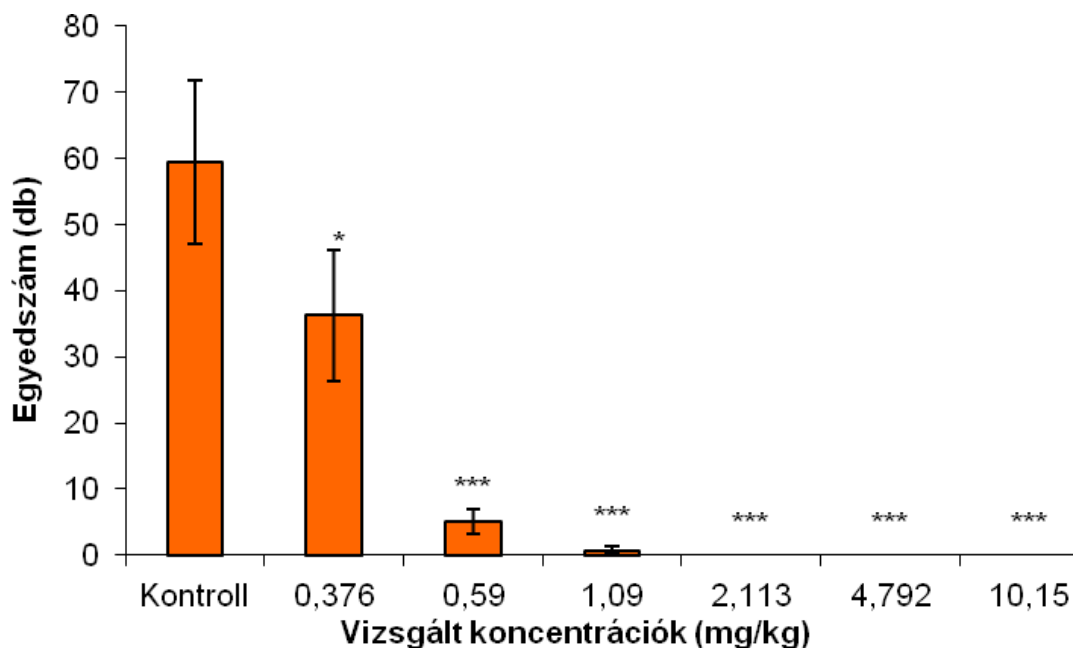
A felvehető elemtartalom okozta hatást vizsgálva a következő eredményeket kapjuk. NOEC érték meghatározásra itt sincs lehetőség. A letális dózishatások vizsgálatakor az LC_{10} érték 0,67 mg/kg, az LC_{50} érték 4,74 mg/kg.

A szelenát formában adagolt szelén reprodukcióra gyakorolt hatása, a nagyhőrcsöki talajon egészen elképesztő eredményeket hozott. A gondosan, a vizsgáló laboratórium kimutathatósági határáig elmenő, koncentráció sor beállítás ellenére sem sikerült NOEC értéket meghatározni. Már a beállí-

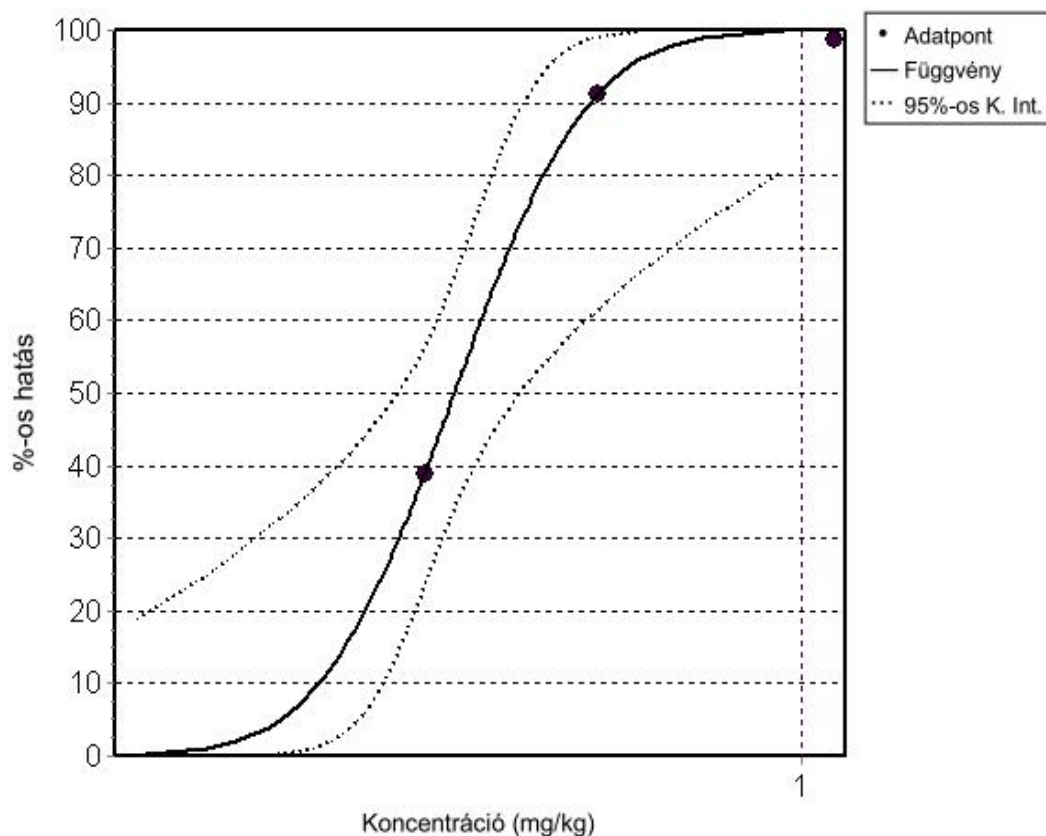
tott első koncentráció statisztikailag igazolható reprodukció csökkenést eredményezett (28. ábra). A probit analízis (29. ábra) által megállapított értékek: EC_{10} 0,29 mg/kg, EC_{50} 0,41 mg/kg.



27. ábra: Na-szenenát kijuttatási koncentrációjának mortalitásra gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a nagyhőrsöki talaj vizsgálatokor



28. ábra: Na-szenenát hatása nagyhőrsöki talajon a közönséges televényféreg reprodukciós képességére, a 6 hetes kísérleti időszakt követően. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$



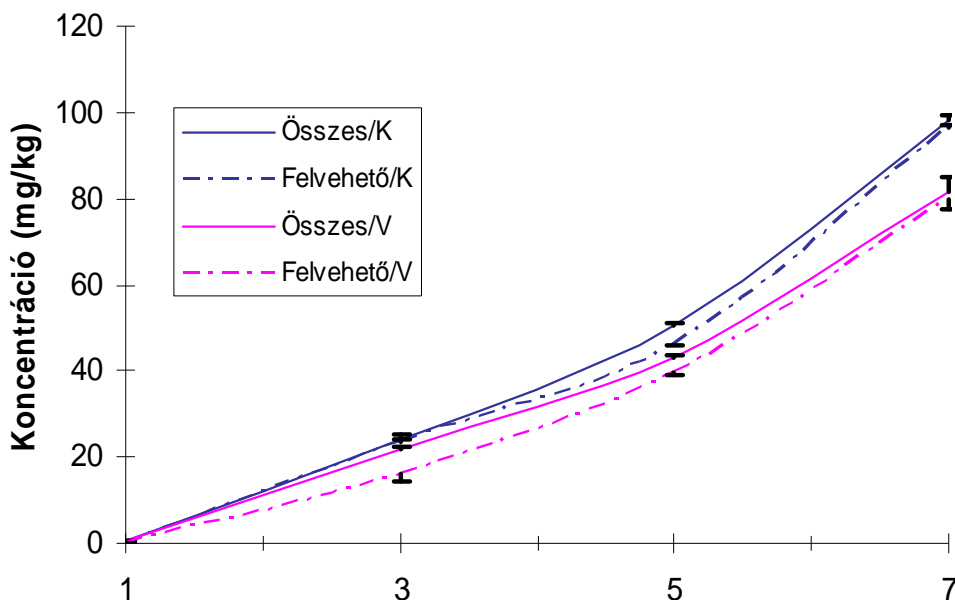
29. ábra: Na-szelenát kijuttatási koncentrációjának reprodukciós képességre gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a nagyhorcsöki talaj vizsgálatakor

A felvehető elemtartalom hatásait elemezve a következő eredményeket kapjuk. Az EC_{10} 0,19 mg/kg, az EC_{50} 0,28 mg/kg.

A nagyhorcsöki talajon tapasztalt, a szelenit és szelenát formák közötti igen eltérő hatást jobban értelmezhetjük, ha itt is megvizsgáljuk miként alakult a szeléntartalom a kísérletek kezdetén és végén (30. ábra). Az ábráról tökéletesen leolvasható hogy a 6 hetes kísérleti periódus alatt az összes és a felvehető elemtartalom aránya változatlan maradt. A kijuttatáskor mért szelén 98,32%-a volt felvehető, míg a vizsgálat végén 97,6%-a. A kísérlet ideje alatt az összes szeléntartalom 17,13%-kal csökkent, a felvehető pedig 17,74%-kal. A nagyhorcsöki talajon kapott eredmények összefoglalását a 10. táblázat tartalmazza.

10. táblázat: A nagyhorcsöki talajon elvégzett kísérlet sorozat összefoglaló eredményei mg/kg-ban

A vizsgált anyag neve	Mortalitás vizsgálat		Reprodukció vizsgálat			
	Összes	Felvehető	Összes	Felvehető		
Na-szelenit	LC_{50}	22,5	8,01	EC_{50}	7,3	2,46
	LC_{10}	7,3	2,05	EC_{10}	2,8	0,82
	NOEC	6,21	1,83	NOEC	2,35	0,8
Na-szelenát	LC_{50}	5,69	4,74	EC_{50}	0,41	0,28
	LC_{10}	0,97	0,67	EC_{10}	0,29	0,19
	NOEC	<4,41	<3,57	NOEC	<0,38	<0,25

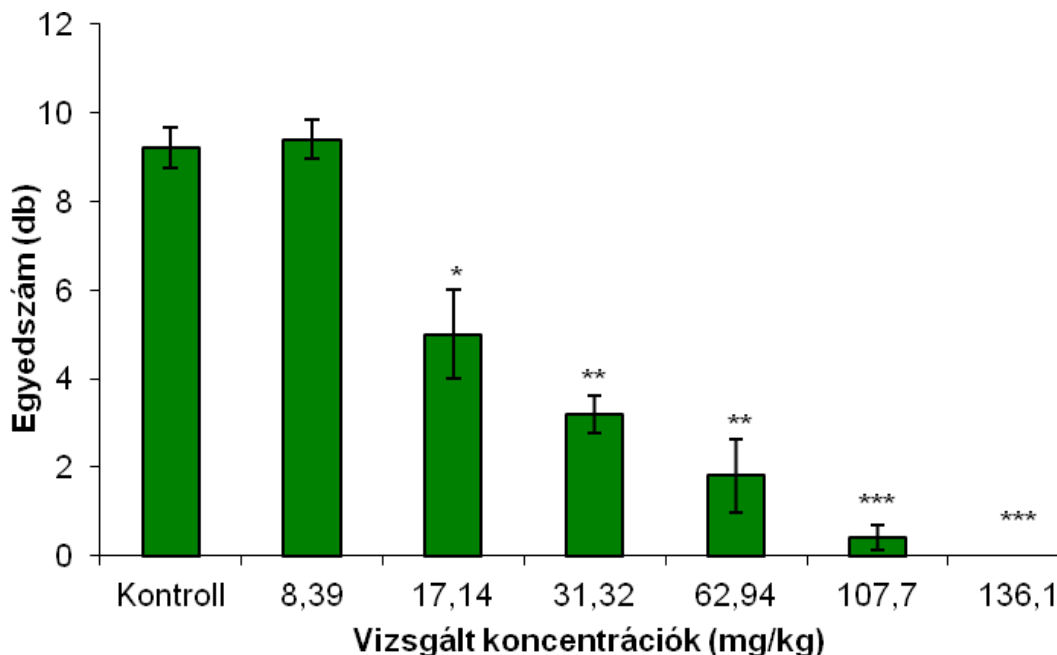


30. ábra: Nagyhörcsöki talajon Na-szelenát szennyezés eredményezte összes és a hozzá kapcsolódó felvehető elemtartalom a kísérletek kezdetén (Összes/K; Felvehető/K) és 6 héttel később, a kísérletek végén (Összes/V; Felvehető/V) A vízszintes tengelyen lévő számok a koncentráció sornak megfelelő különböző kezelésű mintákat jelölik.

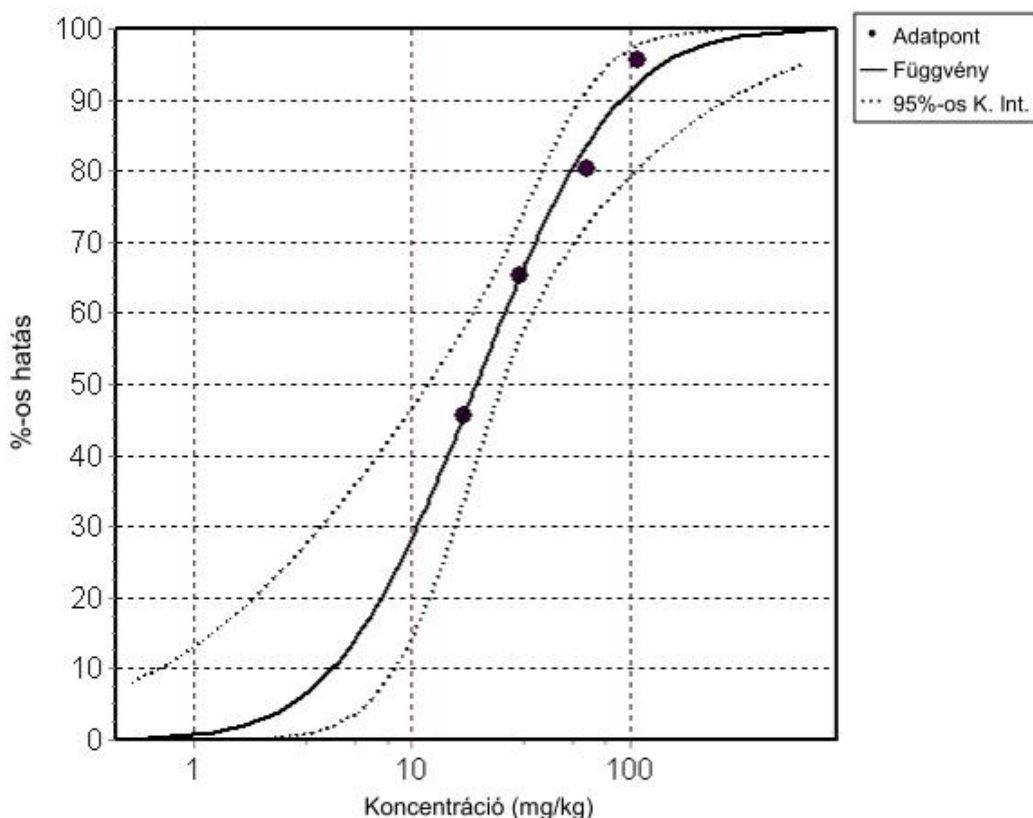
4.2.3. Karcagi talajon végzett kísérletek eredményei

Na-szelenit

Az összes elemtartalmat tekintve, a lúgos pH-jú talajon, a kezelés hatására az állatok mortalitása szignifikánsan növekedett (31. ábra). A legnagyobb koncentrációjú szelénnel szennyezett talajon nem maradt életben állat ($p < 0,001$). A NOEC értékét a program 8,39 mg/kg-ban határozta meg. A probit analízis (32. ábra) eredményeként az LC_{10} érték 4,29 mg/kg, az LC_{50} érték 19,77 mg/kg.

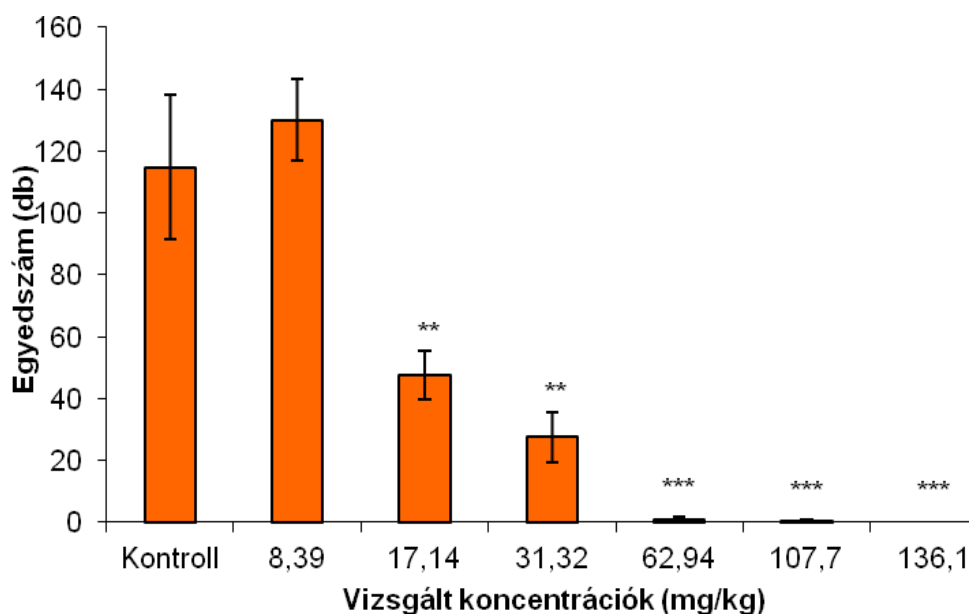


31. ábra: Na-szelenit hatása karcagi talajon a közönséges televényféreg mortalitására, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

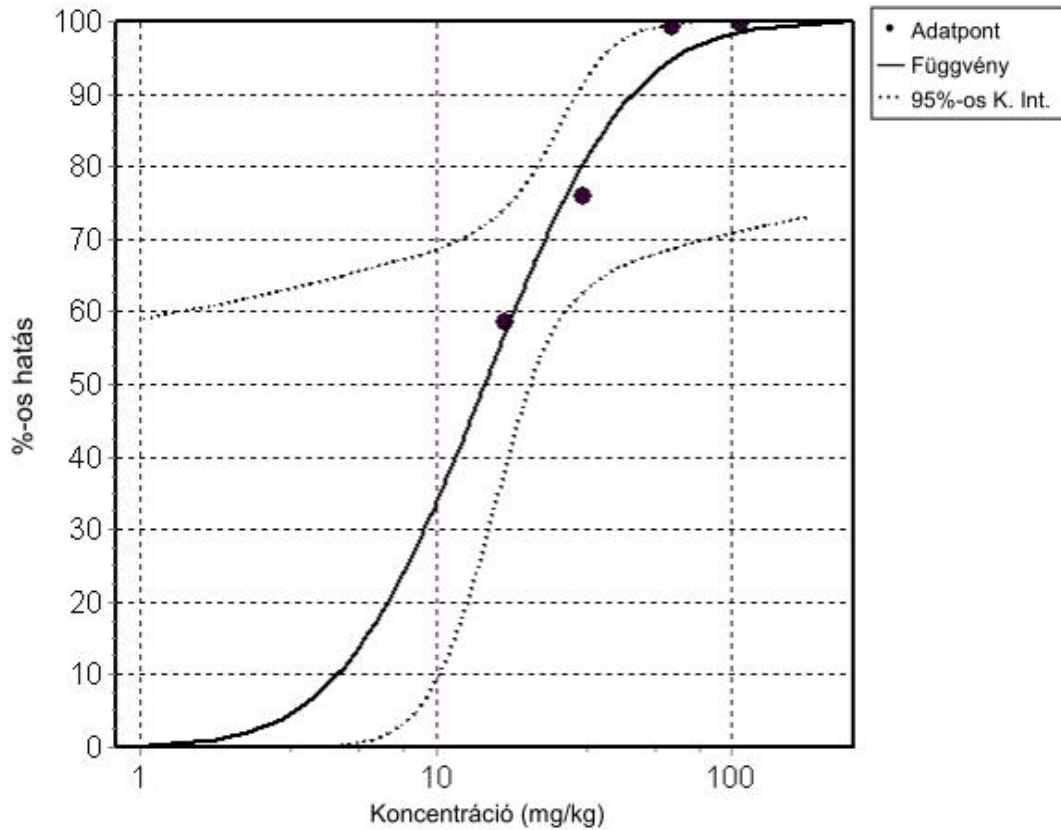


32. ábra: Na-szenit kijuttatási koncentrációjának mortalitásra gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a karcagi talaj vizsgálatokor

Az összes elemtartalom, reprodukcióra vonatkoztatott hatása érdekesebben alakult (33. ábra). Az első koncentrációban tapasztalt, de szignifikánsan nem igazolható utódszám növekedés után, a következő koncentrációkban erőteljes reprodukció csökkenés következett be. A probit analízis a NOEC értékét, hasonlóan a mortalitás vizsgálathoz, 8,39 mg/kg-ban határozta meg. Az EC_{10} érték 4,61 mg/kg, az EC_{50} érték 14,64 mg/kg.

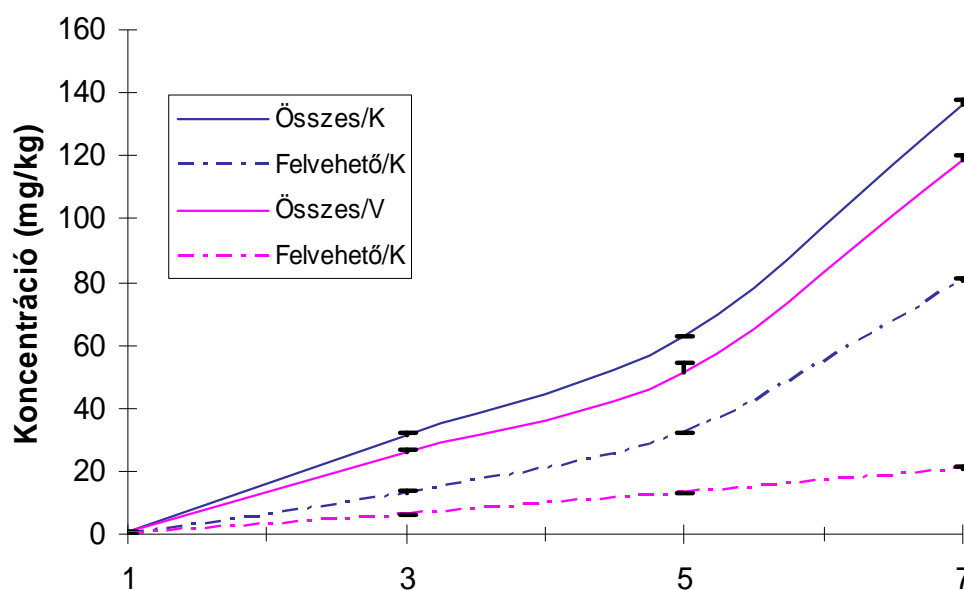


33. ábra: Na-szenittel hatása karcagi talajon a közönséges televényféreg reprodukációs képességére, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$



34. ábra: Na-szelenit kijuttatási koncentrációjának reprodukciós képességre gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a karcagi talaj vizsgálatokor

A felvehető elemtartalom okozta hatások bemutatása előtt, érdemes megvizsgálni, hogy a karcagi talajon miként is alakult az összes és a felvehető szeléntartalmak egymáshoz viszonyított aránya, Na-szelenit kijuttatását követően (35. ábra).



35. ábra: Karcagi talajon Na-szelenit szennyezés eredményezte összes és a hozzá kapcsolódó felvehető elemtartalom a kísérletek kezdetén (Összes/K; Felvehető/K) és 6 héttel később, a kísérletek végén (Összes/V; Felvehető/V) A vízszintes tengelyen lévő számok a koncentráció sornak megfelelő különböző kezelésű mintákat jelölik.

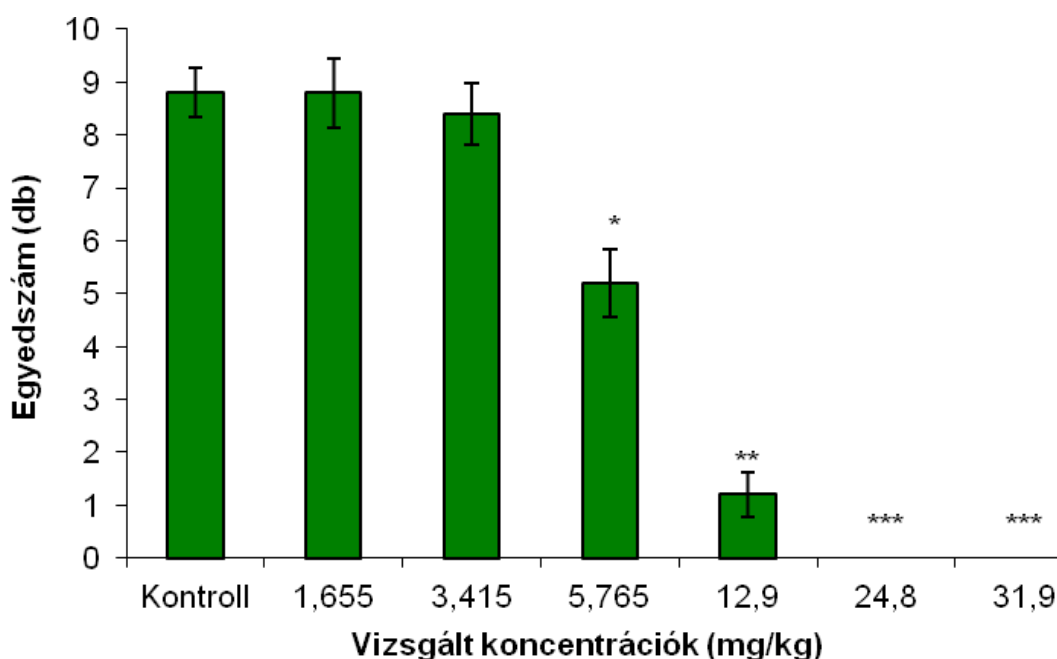
A grafikonon jól látható, hogy milyen nagymértékben csökkent a talajban a felvehető szeléntartalom. A kísérletek kezdetén a kijutatott szelén 58,9%-a volt felvehető. Ez az arány a vizsgálati időszak végére 17,38%-ra csökkent. Jól látható az is, hogy amíg a 6 hetes időtartam alatt az összes szeléntartalom 12,82%-ot csökkent, addig a felvehető elemtartalom ennek többszörösét, 74,28%-ot.

A szelenit formában a talajra jutatott felvehető szeléntartalom mortalitásra gyakorolt hatása a következő képen alakult: NOEC értéket a program 2,50 mg/kg-ban határozta meg. A probit analízis eredményeként, az LC₁₀ érték 1,02 mg/kg, az LC₅₀ érték 7,18 mg/kg.

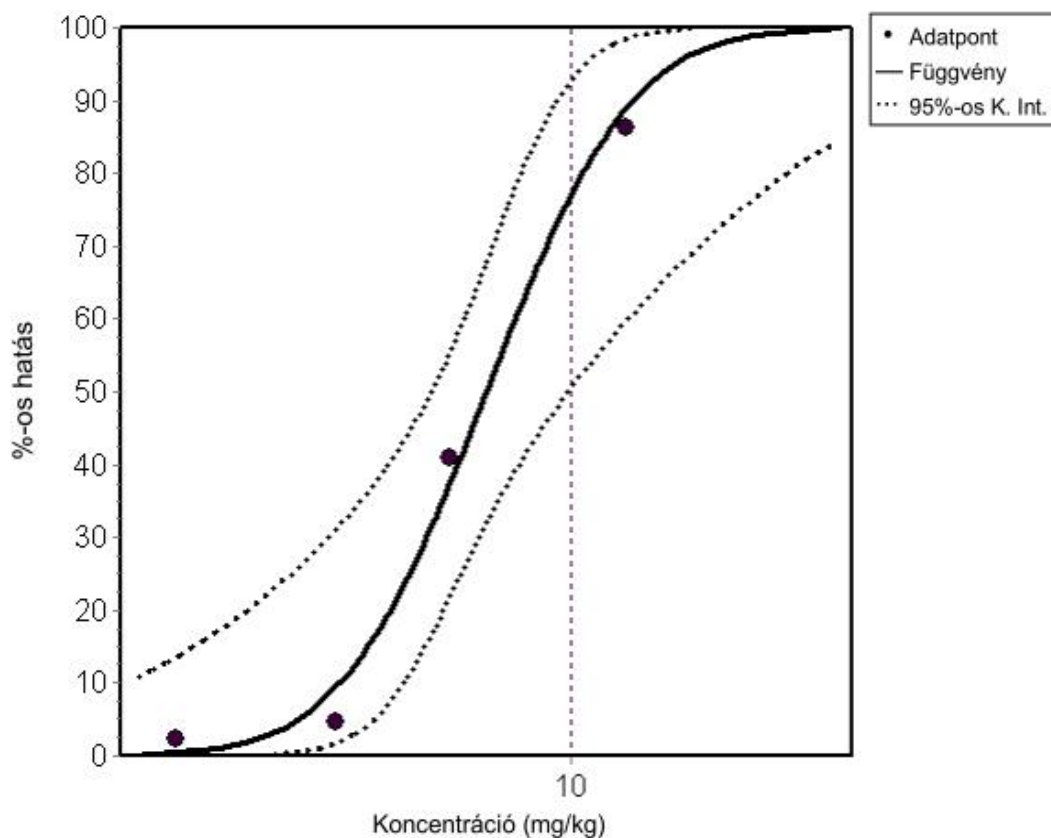
A felvehető elemtartalom reprodukcióra gyakorolt hatásának vizsgálata a következő eredményeket hozta: NOEC értéket 2,50 mg/kg, az EC₁₀ érték 1,08 mg/kg, az EC₅₀ érték 4,85 mg/kg.

Na-szelenát

A kezelés hatására, az összes elemtartalmat tekintve, a tesztállat mortalitása erősen szignifikáns módon nőtt ($p < 0,001$). A legmagasabb koncentrációval kezelt talajokban nem találtunk élő állatot. A beállított koncentráció sor mellett a NOEC érték: 3,41 mg/kg (36. ábra). A probit analízis (37. ábra) eredményeként az LC₁₀ érték 3,49 mg/kg, az LC₅₀ érték 6,80 mg/kg.



36. ábra: Na-szelenát hatása karcagi talajon a közönséges televényféreg mortalitására, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$



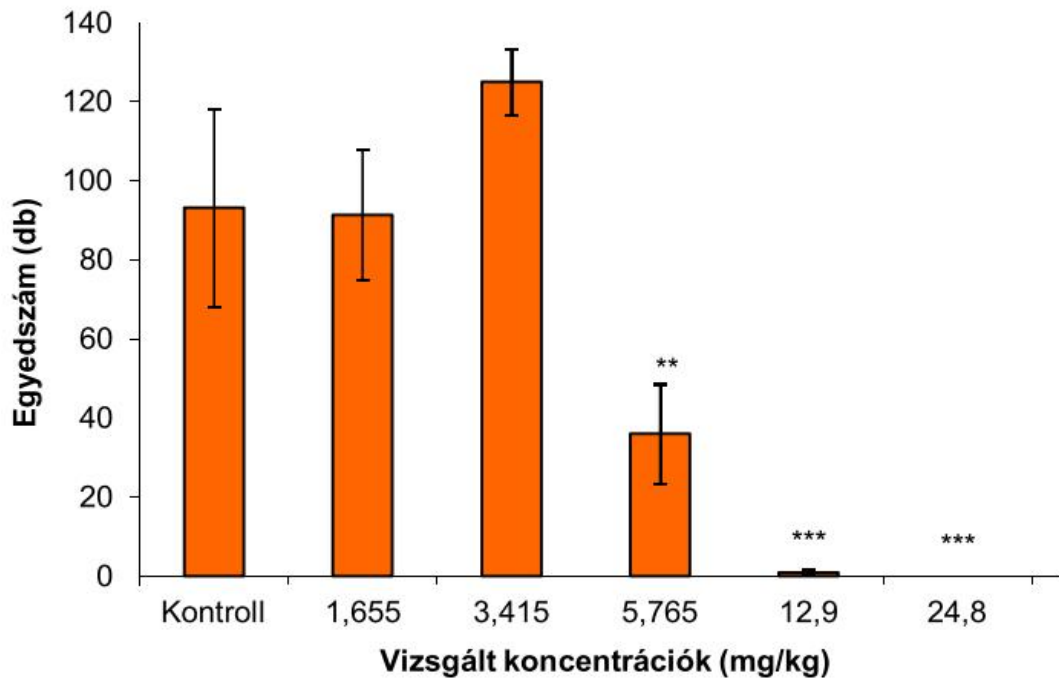
37. ábra: Na-szelenát kijuttatási koncentrációjának mortalitásra gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a karcagi talaj vizsgálatokor

A felvehető elemtartalom okozta hatást vizsgálva az alábbi eredményeket kapjuk: NOEC érték: 2,56 mg/kg, az LC₁₀ érték 2,90 mg/kg, az LC₅₀ érték 6,23 mg/kg.

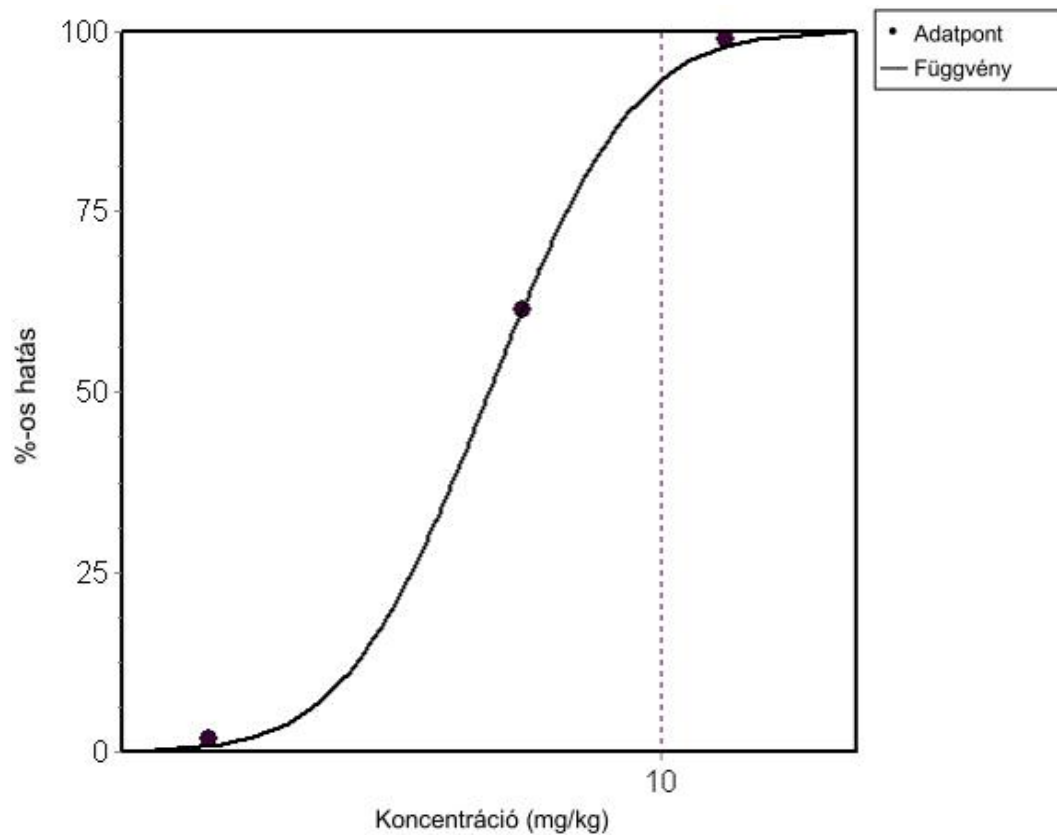
A szelenát formában kijuttatott szelén reprodukcióra gyakorolt hatását a 38. ábra szemlélteti. A statisztikai analízis (39. ábra) a következő eredményeket hozta: NOEC érték: 3,41 mg/kg, EC₁₀ érték: 2,81 mg/kg, EC₅₀ 5,04 mg/kg.

A felvehető elemtartalom okozta hatásokat elemezve a következő eredményeket kapjuk. NOEC érték: 2,56 mg/kg, az EC₁₀ 2,54 mg/kg, az EC₅₀ 4,64 mg/kg.

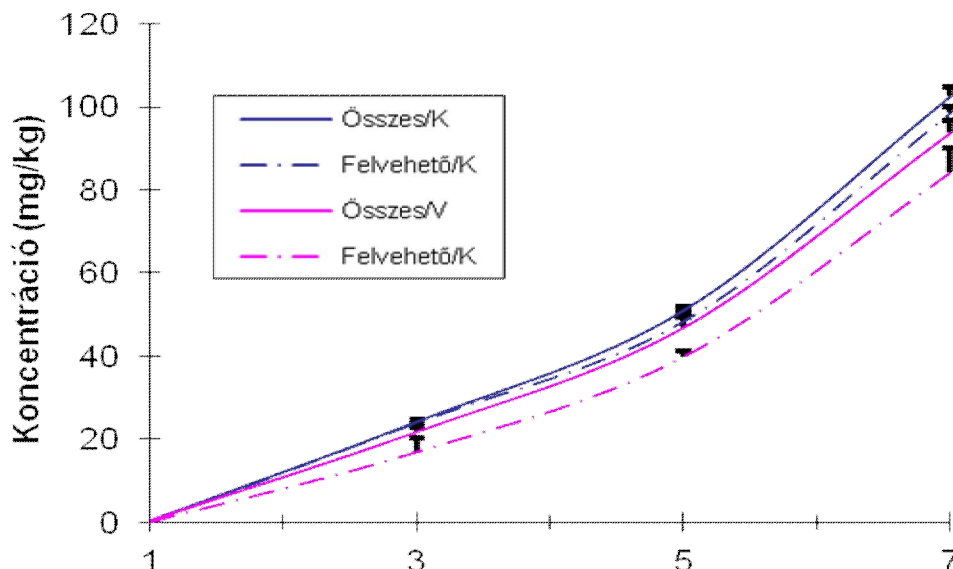
Vizsgálva az összes és felvehető elemtartalmat (40. ábra), a grafikonon jól látható, hogy a kísérlet 42 napja alatt, gyakorlatilag az egymáshoz viszonyított arányuk nem változott. A kísérletek kezdetén a kijuttatott szelén 95,9%-a volt felvehető. Ez az arány a vizsgálati időszak végére sem csökkent 89,8% alá. Jól látható az is, hogy amíg a 6 hetes időtartam alatt az összes szeléntartalom 8,88%-ot csökkent, addig a felvehető elemtartalom ennek nem egész kétszeresét 14,67%-ot. A karcagi talajon kapott eredmények összefoglalását a 11. táblázat tartalmazza.



38. ábra: Na-szenát hatása karcagi talajon a közönséges televényféreg reprodukciós képességére, a 6 hetes kísérleti időszakot követően. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$



39. ábra: Na-szenát kijuttatási koncentrációjának reprodukciós képességre gyakorolt hatás probit analízis ábrája, a karcagi talaj vizsgálatokor



40. ábra: Karcagi talajon Na-szelenát szennyezés eredményezte összes és a hozzá kapcsolódó felvehető elemtartalom a kísérletek kezdetén (Összes/K; Felvehető/K) és 6 héttel később, a kísérletek végén (Összes/V; Felvehető/V) A vízszintes tengelyen lévő számok a koncentráció sornak megfelelő különböző kezelésű mintákat jelölik.

11. táblázat: A karcagi talajon elvégzett kísérlet sorozat összefoglaló eredményei mg/kg-ban

A vizsgált anyag neve	Mortalitás vizsgálat		Reprodukció vizsgálat			
	Összes	Felvehető	Összes	Felvehető		
Na-szelenit	LC ₅₀	19.77	7.18	EC ₅₀	14.64	4.85
	LC ₁₀	4.29	1.02	EC ₁₀	4.61	1.08
	NOEC	8.39	2.50	NOEC	8.39	2.50
Na-szelenát	LC ₅₀	6.80	6.23	EC ₅₀	5.04	4.64
	LC ₁₀	3.49	2.90	EC ₁₀	2.81	2.54
	NOEC	3.41	2.56	NOEC	3.41	2.56

4.2.4. A szelénformák akut hatásvizsgálati eredményeinek értékelése

Sajnálatos módon, bár jelentősége nagy, kutatása kiterjedt, széles körű, mezőgazdasági felhasználása egyre indokoltabb, a szelén talajállatokra gyakorolt hatását alig-alig vizsgálták (Fischer és Koszorus 1992; Bakonyi et al. 2003). Nagyon kevés adat áll rendelkezésünkre, hogy azokra az állatokra, amelyek „átrágják” magukat a talajon – tehát mind a kültakarójuk, mind a tápcsatornájuk révén érintkeznek a szennyezett talajjal – a szelén milyen hatást gyakorol. Érvényesek-e ezen állatokra is a növényeknél általánosan elfogadott pH-függő toxicitás? A biokémiai bomlásnak megfelelően, ezekre az állatokra is a szelenit hat-e toxikusabban? Van-e esetleg más törvényszerűség, ami sem a növényekre, sem a magasabb rendű állatokra nem jellemző?

A toxicitást vizsgálva egyetlen, a korábbi kutatási eredményekkel (Fischer és Koszorús 1992; Jensen et al. 2005) összefüggő, azoknak megfeleltethető eredményt kaptunk. Megállapítható volt, hogy az *Enchytraeus albidus* tesztállatra talajtípustól függetlenül, az összes elemtartalomra vetítve (cc.HNO₃+ccH₂O₂-ban oldott elemtartalom) a Na-szelenát a toxikusabb forma, mind a mortalitás, mind a reprodukciós képességet vizsgálva. Ha azonban a különböző kijuttatott hatóanyag koncentrációkhoz tartozó felvehető elemtartalmakat (NH₄-acetate+EDTA-ban oldott elemtartalom) hasonlítjuk össze egymással, akkor nagyon egyértelműen látható a különböző talajtípusok toxicitást befolyásoló hatása, ugyanakkor ez nem feltétlenül vezethető vissza egyetlen paraméterre. Amíg a nagyhorcsöki talajon továbbra is egyértelműen a Na-szelenát rendelkezik toxikusabb hatással, addig a kompolti, illetve karcagi talajon a két elemforma hatása kiegyenlítődik, esetenként a Na-szelenit válik toxikusabbá.

Általában véve a televényféreg nagyfokú érzékenységet mutatnak a talaj pH változásaira (Kuperman et al. 2006). Amorim et al. (2005b) szignifikáns korrelációt talált a talaj pH valamint a televényféreg mortalitása és reprodukciós képessége között, a talaj 3,2 – 7,4 pH tartományában. A mi vizsgálatainkban ilyen összefüggést nem mutattunk ki, vagy a külső antropogén hatások ezeket felülírták, de bármely szelénforma (szelenit, szelenát) felvehető elemtartalmát vizsgáltuk, azt kaptuk, hogy a kompolti talajban, melynek pH-ja (pH_{H2O} 5,8) lényegesen alacsonyabb, mint a hasonló körülmények között vizsgált karcagi talajé (pH_{H2O} 7,6) erősebb toxicitást mutattak. Mindezek alapján a növények esetében tapasztalt pH függő toxicitás nem mutatható ki egyértelműen a talajlakó televényféreg esetében.

A szelén akut hatásának vizsgálata során, hasonlóan a korábbi eredményekhez, ebben a kísérlet sorozatban is megállapítható volt, hogy az *Enchytraeus albidus* reprodukciós képességének változása lényegesen érzékenyebb paraméter a toxikus hatások kimutatására, mint a mortalitás.

4.3. Új tudományos eredmények

1. A szelén hosszú távú hatásait elemezve megállapítottam, hogy a nagyhorcsöki tartamkísérletben 1991-ben 90 kg/ha-os koncentrációban kijuttatott hatóanyagoknak hét évvel a kijuttatást követően is a reprodukciós képességet szignifikánsan csökkentő hatás van. A magasabb kijuttatási koncentrációkat (270 kg/ha, 810 kg/ha) vizsgálva a mortalitás szignifikáns növekedése is kimutatható volt.
2. Különböző nehézfémek (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) hosszú távú hatásait vizsgálva megállapítottam, hogy a nagyhorcsöki tartamkísérletben kijuttatott koncentrációkban, hét évvel a kijuttatást

követően, kimutatható módon, nem befolyásolták a tesztállat mortalitását, ugyanakkor a legmagasabb koncentrációban valamennyi nehézfém szignifikánsan csökkentette a fiatal állatok egyedszámát. Alacsonyabb kijuttatási koncentráció (270 kg/ha) vizsgálatokor – az előzetes feltételezésekkel ellentétben – már csak a cink (Zn) rendelkezett a reprodukciós képességet szignifikánsan csökkentő hatással.

3. Különböző szelénformák (Na-szelenit, Na-szelenát) rövid távú hatásait három különböző talajtípuson vizsgálva megállapítható, hogy az *Enchytraeus albidus* tesztállatra talajtípustól függetlenül, az összes elemtartalomra vetítve (cc.HNO₃+ccH₂O₂-ban oldott elemtartalom) a Na-szelenát a szignifikánsan toxikusabb forma, mind a mortalitást, mind a reprodukciós képességet tekintve. Ugyanezen paraméterek felvehető elemtartalomra (NH₄-acetate+EDTA-ban oldott elemtartalom) történő vizsgálatokor azt mutattuk ki, hogy az elemformák toxikussága talajfüggő hatást mutat. Amíg a nagyhörcsöki talajon egyértelműen a Na-szelenát rendelkezik toxikusabb hatással, addig a kompolti, illetve karcagi talajon a két elemforma hatása kiegyenlítődik, esetenként a Na-szelenit válik toxikusabbá.
4. A különböző szelénformák (Na-szelenit, Na-szelenát) viselkedését vizsgálva a kísérletek 6 hetes időtartama alatt, megállapítható volt, hogy a Na-szelenát formában adagolt hatóanyag esetében a kísérletek kezdetén, illetve a lebontáskor mért „összes” és „felvehető” elemtartalom aránya gyakorlatilag változatlan maradt (csak a karcagi talaj esetében volt 8-15%-os csökkenés kimutatható). A Na-szelenit hatóanyag esetében a 9-12%-os „összes” elemtartalom csökkenés mellett 35-75%-os „felvehető” elemtartalom csökkenést tapasztaltunk a 6 hetes kísérletsorozatok végén.
5. Új, Magyarországon még kevésbé ismert, nem alkalmazott – a földigilisztával folytatott teszteknél rövidebb ideig tartó – öko-toxikológiai tesztmódszert vezettünk be, gyakorlatilag a módszer Ring-tesztjével egy időben. A metodikába bevezetett módszertani változtatással (O'Connor-féle tölcséres futtatással történő izolálás) biztonságosabbá és pontosabbá tettük a folyamatot. A módszertani változtatás előnye, hogy az alkoholos előléssel és a festéssel szemben nem alkalmaz további vegyszereket. Az állatok kinyerésekor azok aktív mozgására, a fény és meleg előli menekülésére alapoz, így a statisztikai értékelésben ténylegesen csak a kísérleti idő végéig életben maradt állatok szerepelnek.

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

5.1. Mikroelemek hatástartam vizsgálata

Az ökológiai rendszerekbe bekerült anyagok hatását pontosan megmondani, vagy akár csak megközelítő pontossággal megbecsülni nehéz feladat. Köszönhető ez annak, hogy a kijuttatott anyagokra – a vizsgálatunk konkrét példájánál maradva, a különböző fémionokat és mikro-elemeket tartalmazó vegyületekre egyszerre több tényező is hat. E tényezők hatása, az esetek túlnyomó többségében, nem egyforma méretű, időben nem állandó és sokszor a periodikusság is hiányzik. Ezért feltétlenül szükség van olyan vizsgálatokra, mely ugyanazon tényezőket más-más megvilágításban, eltérő körülmények között, különböző indikátorok segítségével teszteli.

Mindinkább megismerve a televényféreg biológiáját, az ökoszisztémában betöltött szerepüket, alkalmassá váltak arra, hogy ökológiai problémák monitorozására, kísérletes bemutatására használják őket. Az egyes televényféreg fajok fémekre való érzékenységét több esetben megfigyelték laboratóriumban és szabadföldön egyaránt (Rüther és Greven 1990; Heck et al. 1995; Didden és Römbke 2001).

A szelén vizsgálatok kapott eredmény magyarázatául szolgálhat, hogy meszes talajon nagyon mozgékonyá válhat, ami eredményeként könnyen felvehetővé válik, mind a növények, mind a táplálkozásukban valamilyen szinten ezekhez a növényekhez kötött állatok számára (Feke, 1999). Különösen igaz lehet e feltételezés a fiatal, tehát még növekvő, fejlődő élőlények tekintetében. A tanszéken korábban az ugróvillásokkal (*Collembola*) elvégzett toxicitási teszt a Se esetében érdekes eredményt hozott. Kimutatható volt, hogy a kis dózisban kijuttatott mikroelem, kis mértékben ugyan, de stimulálta az állatok szaporodását. Ezt követően a dózist emelve a számuk akár a nulláig is lecsökkent. Ezt a jelenséget annak tulajdonították, hogy bizonyos esszenciális elemek (Se kis mennyiségben nélkülözhetetlen), a szükségesnél kisebb mennyiségben vannak jelen a talajban, és ez az élőlényeknél hiánytünetekhez vezethet, amelynek egyik megnyilvánulási formája lehet a reprodukciós képesség csökkenése. Magyarországon köztudottan Se hiányosak a talajok, így a kis mennyiségben (90 kg/ha) kijuttatott mikroelem pozitív hatással lehetett az állatokra. Ez a pozitív hatás ugyanakkor a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) estében nem volt kimutatható, sőt már a legkisebb dózis (30 kg/ha) mellett is, bár nem szignifikánsan, reprodukciós képesség csökkenést tapasztaltunk.

A nehézfémek hatását a két legmagasabb koncentrációban (810 kg/ha, 270 kg/ha) vizsgáltuk. A kifejlett (adult) állatok létszámváltozását, mortalitását, egyik koncentráció sem befolyásolta kimutatható módon. A fiatal (juvenilis) állatok egyedszámának, a reprodukciós képesség változásának vizsgálatokor, a legmagasabb terhelési szinten (810 kg/ha) valamennyi nehézfém szignifikáns hatást eredményezett, csökkentette a fiatal állatok egyedszámát.

A 270kg/ha-os nehézfém terhelés reprodukciós képességre gyakorolt hatásának vizsgálatokor megállapítható volt, hogy a kontroll eredményeihez képest, ebben a koncentrációban, szignifikáns hatással már csak a cink (Zn) rendelkezik. Csak ennek az elemnek a hatására csökkent kimutathatóan a reprodukciós képesség.

A nagyhőrcsöki talajmintákon végzett kísérletek eredményeit összevetve más, szintén nehéz-fém és mikroelem toxicitást televényférgeken vizsgáló kutatások (Willuhn et al. 1994a, b; 1996a, b; Sjögren et al. 1995; Didden és Römbke 2001) eredményeivel, igazolva látom azt az általános tézist, mely szerint a természetest meghaladó, kellően nagy koncentrációban a legtöbb elem toxikussá válhat a talajlakó állatokra. A kutatások során leggyakrabban vizsgált – és ezek alapján toxikusnak minősített – fémek, úgy mint a kadmium (Cd), a réz (Cu), a higany (Hg), a króm (Cr), a cink (Zn) és az ólom (Pb), a szelén a mi vizsgálatainkban is szerepeltek. Hasonlóan a feldolgozott kutatásokhoz a mi esetünkben is a reprodukcióra gyakorolt hatás volt erősebb. Kadmium és réz esetében több kutató is bizonyította (Willuhn et al. 1994a,b; 1996a,b; Sjögren et al. 1995) valamiféle biológiai mechanizmus létezését, melyben az állatok képesek voltak a számukra toxikus elemek gyorsabb ütemű kiválasztására, vagy felvételük gátlására. Ugyan ezt a hatást a cink esetében (Sjögren et al. 1995) viszont nem tapasztalták. A cinket a vizsgált televényféreg a környezeti koncentrációnak megfelelő szinten halmozta fel a testében. Talán ez a jelenség lehet oka annak, hogy a vizsgált nehézfémek esetében a cink bizonyult a leginkább toxikusnak. Érdekes eredményekre vezethet és pontosabb magyarázatot adhat ha a további elemek (Hg, Cr, Pb) esetében is folytatnának vizsgálatokat a felvétel gátlása, vagy a kiválasztás gyorsításának megállapítására.

A kapott eredményeket összehasonlítva a tanszéken más szervezetekkel elvégzett toxicitási tesztek eredményeivel, szintén ki kell emelnünk a cinket. Az ugróvillásokkal elvégzett szabadföldi toxicitási tesztben ennek az elemnek a legmagasabb koncentrációban sem sikerült a reprodukciós rátát befolyásoló hatását kimutatni, míg a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) esetében ez szignifikánsan már a harmadik szintnél jelentkezett. Érdekesség továbbá, hogy amíg a legtöbb nehézfém esetében (Cd, Cr, Cu, Pb) az ugróvillások a legmagasabb koncentrációra egyedszám csökkenéssel (esetenként azzal sem) reagáltak, addig a televényférgek, kivétel nélkül minden nehézfém (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) esetén a reprodukciós képesség csökkenésével válaszoltak. Figyelembe véve ezeket az adatokat, továbbá azt, hogy a közönséges televényféreg olyan Se-koncentrációra (90

kg/ha) is, amelynél még életképesség-csökkenés nem volt kimutatható, a szaporodási képesség csökkenésével reagált, kijelenthetjük, hogy ezek az állatok a talajok mikroelemekkel való szennyezését sokkal hamarabb jelzik a reprodukciós képesség csökkenésével, mint az egyedszámuk csökkenésével. Különösen érdekes lehet e feltevés annak tükrében, hogy számos irodalmi adat utal arra, hogy a hosszabb ideig fémterhelésnek kitett ugróvillások képesek alkalmazkodni a megváltozott környezethez és a toxicitást, megnövelt szaporodási rátával próbálják kompenzálni (Feke, 1999).

Fontos kiemelni, hogy a kísérletsorozat igazolta a közönséges televényféreg talaj-ökotoxikológiai tesztekben való alkalmasságát, nagyfokú érzékenységét, abban az időszakban, mikor az állatokkal kialakítandó teszt módszer, az *Enchytraeid Reproduction Test* (ERT) még csak tesztelés fázisában, a módszer leírása „draft” változatban létezett.

Megállapítható volt továbbá, hogy a vizsgált elemek közül messzemenően a szelén rendelkezett a leghosszabban tartó negatív hatással, némileg ellentmondva azoknak az információknak, hogy megfelelő közegben, optimális pH érték mellett könnyen mobilissá válik és a talaj mélyebb rétegeibe mosódik, vagy jellegzetes (fokhagymára emlékeztető) szagot árasztva kipárolog.

Mindezen információk együttesen alapozták meg a további kutatást és tették nyilvánvalóvá, hogy a szelén és annak különböző előfordulási formáinak vizsgálatával további fontos ismeretek birtokába kerülhetünk.

5.2. Különböző szelénformák akut hatásvizsgálata

Kísérleteink célja volt kideríteni, hogy különböző, a növények által felvehető szelénformák, miként hatnak a közönséges televényféregre (*Enchytraeus albidus*), különböző talajtípusokon. 2004 tavaszán kezdődtek el azok a vizsgálatok, melyekben három különböző talajtípust vizsgáltunk, figyelve arra, hogy a talajtípusok paraméterei még megfeleljenek a tesztállat ökológiai igényének, viszont szerkezetükben kellően különbözzenek ahhoz, hogy a szelén „felvehetőségét” – a szakirodalmi adatok alapján – befolyásolják.

A szakirodalmi adatok (Szabó et al. 1993; Vernie 1984; Kádár 1999; Hargitainé 1989) elfogadott tényként kezelik, hogy a szelén, savas közegben oldhatatlan vas-komplex formában a növények számára gyakorlatilag felvehetetlenné válik. Ez a folyamat a pH emelkedésével egyre inkább háttérbe szorul és lúgos közegben a szelén vízben oldódóvá, a növények számára könnyen felvehetővé alakul. Ebben az esetben a két, mezőgazdaságilag is jelentős szelénforma közül, a szelenát felvehetősége intenzívebb, felvétele könnyen elérheti a toxikus szintet, akár a növényt fogyasztó állatok számára is. Hatása azonban rövid, egy termelési ciklus alatt eltűnik a talajból, köszönhetően annak

is, hogy rendkívül illékony. Kipárolgását jellegzetes rothadó, fokhagymára emlékeztető szag kíséri. A szelenit ezzel szemben, még lúgos közegben is lassabban, egyenletesebben vehető fel, hatása akár 4-5 évig is elhúzódhat. Toxicitás az első évben ugyan itt is kialakulhat, mértéke azonban jelentősen kisebb. További érdekessége a két elemnek, hogy nem a „végleges” formáik, hanem azok bomlás-termékei okozzák az esetleges toxicitást. Az általunk vizsgált két elem esetében, a bomlási folyamatok során először a szelenátnak kell szelenitté redukálnia. Ez azt jelenti, hogy a toxikus bomlás-termékek „egy lépéssel később” jelennek meg. Ebből logikusan következne a szelenit toxikusabb volta, amit magasabb rendű állatok esetében több tanulmányban ki is mutattak (Anke et al. 2003; Szabó et al. 1993).

Sajnálatos módon, bár jelentősége nagy, kutatása kiterjedt, széles körű, mezőgazdasági felhasználása egyre indokoltabb, a szelén talajállatokra gyakorolt hatását alig-alig vizsgálták (Fischer és Koszorus 1992; Bakonyi et al. 2003). Nagyon kevés adat áll rendelkezésünkre, hogy azokra az állatokra, amelyek „átrágják” magukat a talajon – tehát mind a kültakarójuk, mind a tápcsatornájuk révén érintkeznek a szennyezett talajjal – a szelén milyen hatást gyakorol. Érvényesek-e ezen állatokra is a növényeknél általánosan elfogadott pH-függő toxicitás? A biokémiai bomlásnak megfelelően, ezekre az állatokra is a szelenit hat-e toxikusabban? Van-e esetleg más törvényszerűség, ami sem a növényekre, sem a magasabb rendű állatokra nem jellemző?

A szelenit és szelenát (mint két vízdékony szelénforma) adszorpcióját a talajban több tényező is befolyásolhatja (Hyun et al. 2006). Hasonló talajokon végzett összehasonlító analitikai vizsgálatok azt mutatják, hogy a szelenit adszorpciója a talajok szilárd fázisaihoz nagyobb, mint a szelenáté hasonló feltételek között (Coppin et al. 2006; Sharmasarkar és Vance 2002). A talajok fokozatosan növekvő pH-jának megfelelően a szelén adszorpciók képességük csökken (Goh és Lim 2004). A mi tanulmányunkban is hasonlóak voltak a talajok – szelén adszorpciót befolyásoló – főbb paraméterei, ezért azt gondoltuk, hogy a kísérletek ideje alatt a szelénformák között lényeges átalakulás nem következik be. Ezzel szemben a legmagasabb pH értékkel jellemezhető karcagi talajban tudtuk ki-mutatni a legerősebb szelén adszorpciót, a szelenittel kapcsolatban, aminek magyarázatát talán a magasabb mikrobiális aktivitásban lehet keresni.

Akár a mortalitást, akár a reprodukciós képességet vizsgáltuk megállapítható volt, hogy bármelyik szelén forma legalább egy nagyságrenddel mérgezőbb volt, mint a korábban ezekre az állatokra tesztelt nehézfémek (Lock és Janssen 2001a, 2002a, c), vagy akár a Phenmedipham növényvédőszer (Amorim et al. 2005b; Kuperman et al. 2006). A különböző irodalmi adatok összehasonlítása alapján megállapítható volt, hogy a szelén *E. albidus*-ra gyakorolt toxikus hatása erő-

sebb, mint az egyéb talajlakó állatoknál, úgy mint *Eisenia fetida*, *Lumbricus terrestris* vagy a *Megaselia scalaris* (Fischer és Koszorús 1992., Jensen et al. 2005; Serda és Furst 1987, Jensen et al. 2006). Ráadásul megállapítható volt – elemezve a koncentrációsorra adott válaszreakciók regresszió görbéit – hogy a még szükséges illetve már toxikus szelénkoncentrációk közötti távolság függ a talaj típusától. Ez azért különösen fontos, mert az esszenciális és toxikus szelénkoncentráció közötti különbség egy igen szűk tartományon belül mozog.

Eredményeink azt mutatják, hogy a vizsgált két elem (Na-szelenit, Na-szelenát) tekintetében, az összes elemtartalomra vonatkoztatva, az általunk alkalmazott kísérleti körülmények között jelentős a különbség a mért toxikus küszöbértékekben. A Na-szelenát mindhárom talajtípuson lényegesen toxikusabbnak bizonyult a Na-szelenitnél. Ezeket az eredményeket megerősítik más talajlakó gerinctelen állattal végzett vizsgálatok (Jensen et al. 2005, Somogyi et al. 2007). Kivételt képeznek ezek alól a *L. terrestris* tesztek (Serda és Furst 1987) és a vízi környezetben, vízi szervezetekkel (*Hyalella azteca*, *Corophium* sp., *Daphnia magna*) végzett tesztek (Brasher és Ogle 1993; Hyne et al 2002; Dunbar et al. 1983; Maier et 1993). Eisler (2007) általános megállapításai értelmében a szelenit vízi környezetben sokkal toxikusabb, mint a szelenát.

Az a tény, hogy a toxicitásbeli különbség eltűnik, ha nem az összes, hanem a felvehető elemtartalmat vizsgáljuk, azt engedi feltételezni, hogy a szelenit és szelenát felvételi módja különbözhet a teszttállatok esetében. A szelén felvétele (akár szelenit, akár szelenát) történhet a testfelszínen, vagy akár a bélcsatornákon keresztül. Megvalósulhat pusztán a pórusvíz által, de akár az emésztőrendszer segítségével a pórusvíz mellett a talajszemcséken és a táplálékon keresztül is. Az eredményeket elemezve feltételezhetjük azt is, hogy csak a pórusvízen keresztül jut a szelén oldható elemtartalom része az állatokba. Ez is magyarázhatná, hogy a felvehető elemtartalmakat elemezve a ható koncentrációk közelítenek egymáshoz. Feltételezhetjük ugyanakkor azt is, hogy az emésztőrendszer enzimes és mikrobiális folyamatai is részt vesznek a szelén felszívódásában, hiszen a talajon átrágva magukat ezek az állatok a talajban lévő összes szeléntartalommal kapcsolatba kerülnek. Ez esetben élnünk kell azzal a hipotézissel, hogy a szelenit erősebben kötődve a talajszemcsékhez, nehezebben elérhető a bélflóra számára, mint a szelenát, hiszen nagyobb mennyiségben vált hasonló mértékben toxikussá. Mindkét feltételezést érdemes lehet a jövőben tovább vizsgálni.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az ember, nagy mértékben a talajon termesztett növényekből származó élelemre utalt. A talajok és a rá ható környezeti tényezők között dinamikus egyensúly áll fenn. Ez az egyensúly a növekvő emberi tevékenység hatására mind sérülékenyebbé válik. A földi élő rendszerek, így a talaj sem képesek rövidtávon alkalmazkodni a drasztikus környezeti átalakulásokhoz. A különböző mikroelemekkel, nehézfémekkel szennyezett talajok alapvető környezeti problémát jelentenek, hiszen számos elem a feltalajban maradványként hosszú évtizedekig megőrizheti potenciális mérgező hatását. Az értekezésben leírt kutatások célja volt, megvizsgálni, hogy:

- Az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet nagyhőrcsöki tartamkísérletében alkalmazott nehézfémek és mikroelemek közül a vizsgálatra kiválasztott elemek (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn, Se) hét évvel a kijuttatásuk után miként befolyásolják a tesztállat – közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) – mortalitását és reprodukciós képességét?

A mikroelemek hatástartam vizsgálat eredményeinek értékelése alapján megtervezett további vizsgálatok célja volt megállapítani, hogy:

- Milyen hatással van a friss szennyezőként talajba juttatott szelén, a korábban vizsgált paraméterekre, laboratóriumi körülmények között?
- Van-e hatáskülönbség a szelén talajban előforduló két felvehető formája, a szelenit és a szelenát között?
- A hatáskülönbségeket befolyásolják-e a különböző, mezőgazdaságilag művelt területekről származó talajok?

Vizsgálatainkat a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) segítségével végeztük el, laboratóriumi körülmények között. A kísérleteket a Römbke & Moser (1999) szerzőpáros által kidolgozott *Enchytraeus* Reprodukciós Teszt (ERT) módszer útmutatásai alapján két, kronológiailag egymás után következő kísérletsorozatban végeztük. A vizsgált paraméterek a tesztállat reprodukciós képességében és mortalitásában bekövetkező változások voltak.

A mikroelemek hatástartam vizsgálata az MTA-TAKI nagyhőrcsöki kísérleti telepén 1991-ben beállított nagyszabású tartamkísérlethez kapcsolódott. Hét szennyezőanyag vizsgálatát kezdtük meg. Szelén esetében a teljes szennyezési sort teszteltük (30mg/kg, 90mg/kg, 270mg/kg, 810mg/kg kijuttatott mennyiség), a többi elemnél (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) a két legmagasabb kijuttatott szennyezési szintű (90mg/kg, 270mg/kg) parcellák talajait vizsgáltuk, hét évvel a kijuttatást követően.

Vizsgálataink második felében, a mikroelemek hatástartam vizsgálateredményeit felhasználva, különböző szelénformák (Na-szelenit, Na-szelenát) akut hatásait vizsgáltuk mezőgazdasági művelés alatt álló területekről, eltérő paraméterekkel rendelkező talajokon (Nagyhörcsöki csernozjom talaj, Kompolti barna erdő talaj, Karcagi réti szikes talaj).

A kísérletsorozatok végén megállapítható volt, hogy az általunk választott tesztállat az *Enchytraeus albidus* reprodukciós képességének változása lényegesen érzékenyebb paraméter a toxikus hatások kimutatására, mint a mortalitás.

A mikroelemek hatástartam vizsgálatok eredményeként megállapítható volt, hogy hét évvel a kijuttatást követően, a vizsgált elemek közül, a szelén rendelkezik a legerősebb toxikus hatással, ami mind a mortalitás, mind a reprodukciós képesség változásában megmutatkozott. A nehézfémek közül a cink rendelkezett a legerősebb gátlással, a vizsgált alacsonyabb koncentráció mellett is képes volt reprodukciós gátlást kifejteni, míg ez a többi nehézfém esetében csak a legmagasabb kijuttatási koncentráció mellett volt igazolható.

A különböző szelénformák akut hatásvizsgálata során megállapításra került, hogy a két vizsgált szelénforma (Na-szelenit, Na-szelenát) közül az összes elemtartalomra vetítve ($\text{cc.HNO}_3 + \text{cc.H}_2\text{O}_2$ -ban oldott elemtartalom) a Na-szelenát a toxikusabb forma, mind a mortalitás, mind a reprodukciós képességet vizsgálva. Ugyanezen paraméterek felvehető elemtartalomra (NH_4 -acetate+EDTA-ban oldott elemtartalom) történő vizsgálatok azt mutattuk ki, hogy az elemformák toxikussága nem követte az összes elemtartalomnál tapasztaltakat. Voltak paraméterek és talajtípusok, melyeknél a szelenit vált toxikusabbá.

Összegezve az értekezésben leírtakat megállapítható, hogy a közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) érzékeny az olyan antropogén stressz faktorokra, mint a nehézfémek, melyek jelenléte és negatív hatása akár hét évvel a szennyezés megtörténte után is kimutatható segítségükkel. Tesztállatunk a szerves szelén (szelenit, szelenát) hatásvizsgálatakor érzékenyebbnek bizonyult, mint a korábban vizsgált talajlakó állatok. Reprodukciós képességeikben bekövetkező változások miatt már a talaj szelén koncentrációjában bekövetkező egészen kis változások monitorozására is alkalmas. A vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy a különböző szelénformák biológiai használhatósága más és más. Ez lehet a magyarázata annak miért figyeltünk meg eltérő toxikus hatást a szelenit és szelenát összehasonlításában az összes és felvehető elemtartalmak tekintetében.

7. SUMMARY

Mankind is to a large extent reliant on the food originated from plants grown on the ground. There is a dynamic equilibrium between the soils and the environmental factors influencing them. Due to the increasing human activities, this balance is becoming more and more vulnerable. The living systems on earth, such as the soils, are not able to adapt to the dramatic environmental transformations in the short term. Soils contaminated with various trace elements and heavy metals imply an essential environmental problem, because the numerous elements remaining in the topsoil for decades may keep their toxic effects.

The aim of the described investigations in the dissertation was to determine:

- how the mortality and the reproduction of the common potworm (*Enchytraeus albidus*) was influenced by the heavy metals and trace elements selected for this research (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn, Se) seven years after their application in the long-term experiment of MTA-TAKI at the Nagyhörcsök experimental site.

The aim of the further investigations planned on the basis of the evaluation of the first experiment series' results was to determine:

- the effect of selenium (Se) applied to the soil as a new contaminant on the earlier examined parameters within a laboratory environment;
- whether there is any difference in the effect of the two absorbable forms of selenium - selenite and selenate - occurring in the soil;
- whether the differences in the effect are influenced by the soils originating from different agricultural cultivated areas.

Our experiments were carried out with the help of the common potworm (*Enchytraeus albidus*) within a laboratory environment. The experiments were performed on the basis of the of the *Enchytraeus* Reproduction Test (ERT) guide-line developed by Römbke & Moser (1999) in two, chronologically adherer experiment series. The examined parameters were the mortality and reproduction of the test animal.

The first experiment series was connected to the long-term experiment of MTA-TAKI at the Nagyhörcsök experimental site set-up in 1991. We started out with the examination of seven pollutants. In case of selenium (Se) we tested the whole concentration series (contamination levels of 30mg/kg,

90mg/kg, 270mg/kg, 810mg/kg), in case of the other elements (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) we examined the soils of the pots with the two highest contamination levels (90mg/kg, 270mg/kg) seven years after the application.

Using the results of the first experiment series, in the second one we examined the acute effects of the different forms of selenium (Na-selenite, Na-selenate) on soils with unlike parameters originating from agricultural cultivated areas (Nagyhörcsök chernozem soil, Kompolt brown forest soil, Karcag meadow saline soil).

By the end of the experiment series it could be established that the change of the reproduction of our test animal, the *Enchytraeus albidus*, was an essentially more sensitive parameter to the demonstration of the toxic effects than the mortality.

As a result of the first experiment series it was found those seven years after the contamination, of the examined elements, selenium has the strongest toxic effect that was shown both in the mortality and the change in the reproduction capability. Of the heavy metals, zinc had the strongest inhibition; it was able to demonstrate a reproduction inhibition at the lower examined concentration as well, while in case of the other heavy metals this could only be justified at the highest applied concentration level.

In the second experiment series it was found that of the two examined forms of selenium (Na-selenite, Na-selenate) projected to the total element content (element content dissolved in cc.HNO₃+ccH₂O₂) Na-selenate is the more toxic form, examining both mortality and the reproduction capability.

At the examination of the same parameters projected to the available element content (element content dissolved in NH₄-acetate+EDTA) we could show that the toxicity of the element forms did not follow the experiences of the ones at the total element content. There were some parameters and soil types at which the selenite became more toxic.

To sum up the described in the dissertation, it can be stated that the potworm (*Enchytraeus albidus*) is sensitive to such anthropogenic stress factors as the heavy metals, the presence and negative effects of which can still be detected even seven years after the contamination with our help. At the impact assessment of the inorganic selenium (selenite, selenate) our test animal proved to be more sensitive than the earlier examined animals living in the soil. Due to the occurring changes in their reproduction capabilities, even a small alteration in the soil's selenium concentration can be monitored this way.

10.14751/SZIE.2013.029

On the basis of the examinations, it seems that the biological utilisation of the various selenium forms differs. This may explain why we observed different toxic effects in comparing selenite and selenate in respect of the total and available element content.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- ABRAHAMSEN G. (1983): Effects of lime and artificial acid rain on the enchytraeid (Oligochaeta) fauna in coniferous forest. *Holarct. Ecol.* 6 247-254. p.
- ACHAZI R.K. et al. (1995): Einfluss von BaP, Fla und Cd auf Lebenszyklus parameter von *Enchytraeus crypticus* in Labor-testsystemen. (Einfluss von anthropogenen Schadstoffen auf terrestrische Invertebraten 2) *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*, 24 535–540. p.
- ACHAZI R.K. et al. (1996): Der Einfluss des pH-Werts und von PCB52 auf reproduktion und Besiedlungsaktivität von terrestrischen Enchytraeen in PAK-, PCB- und schwermetall-belasteten Riesefeldböden. *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*, 26 37–42. p.
- ACHAZI R.K. et al. (1999): The effect of soil from former irrigation fields and of sewage sludge on dispersal activity and colonizing success of the annelid *Enchytraeus crypticus* (Enchytraeidae, Oligochaeta). *Newsletter on Enchytraeidae*, 6 117–126. p.
- ALLAWAY W.H. (1968): Agronomic controls over the environmental cycling of trace elements. *Advances in Agronomy*, 2 235-274. p.
- AMORIM M.J.B. et al. (1999): Comparison of chronic toxicity of Lindane (γ -HCH) to *Enchytraeus albidus* in two soil types: the influence of soil pH. *Pedobiologia*, 43 635–640. p.
- AMORIM M.J.B. et al. (2002): Bioavailability and toxicokinetics of 14 C-Lindane (gamma-HCH) in the Enchytraeid (*Enchytraeus albidus*) in two soil types: The aging effect. *Arch. Environ. Cotam. and Tox.* 43 221–228. p.
- AMORIM M.J.B. et al. (2005a): Effect of different soil types on the enchytraeids *Enchytraeus albidus* and *Enchytraeus luxuriosus* using the herbicide Phenmedipham, *Chemosphere* 61 1102-1114. p.
- AMORIM M.J.B. et al. (2005b): Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: Effects of Benomyl, Carbendazim, Phenmedipham and different soil types. *Chemosphere*, 59 501–510. p.
- AMORIM M.J.B. et al. (2011): Development of a microarray for *Enchytraeus albidus* (Oligochaeta): preliminary tool with diverse applications. *Environ. Toxicol. Chem.* 30 (6) 1395-1402. p.
- AMORIM M.J.B., SCOTT-FORDSMAND J.J. (2012): Toxicity of copper nanoparticles and CuCl_2 salt to *Enchytraeus albidus* worms: Survival, reproduction and avoidance responses. *Environmental Pollution* 164 164-168. p.
- ANKE M., REGIUSNÉ M.Á., GUNDEL J. (2003): A szelén szerepe és előfordulása a táplálékláncban (növény-állat-ember). *Állattenyésztés és takarmányozás*, 52 (3) 1-34. p.
- ARRATE J.A., RODRIGUEZ P., MARTINEZ-MADRID M. (2002): Effects of three chemicals on the survival and reproduction of the oligochaete worm *Enchytraeus coronatus* in chronic toxicity tests. *Pedobiologia*, 46 136–149. p.
- ASTM [American Society for Testing and Materials] (2000): Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm *Eisenia fetida* and the Enchytraeid Potworm *Enchytraeus albidus*. ASTM Guideline No. E 1676-97.
- BAGUER A.J., JENSEN J., KROGH P.H. (2000): Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna. *Chemosphere*, 40 751–757. p.
- BAKONYI G., NAGY P., KÁDÁR I. (2003). Long term effects of heavy metals and microelements on nematode assemblage. *Toxicology Letters* 140-141 391-401. p.

- BAKONYI G. et al. (2009): Új irány a talajállatok ökotoxikológiájában. *Állattani közlemények* 94 (1) 3-17 p.
- BECK L. et al. (1988): Vergleichende ökologische Untersuchungen in einem Buchenwald nach Einwirkung von Umweltchemikalien. *Jülich Special*, 439 548–701. p.
- BENGTSSON G., RUNDGREN S. (1982): Population density and species number of enchytraeids in coniferous forest soils polluted by a brass mill. *Pedobiologia*, 24 211-218. p.
- BEYLICH A. (2001): Untersuchungen an Enchytraeiden (Oligochaeta) zum Einfluss von Bodenfeuchte und pH-Wert auf die Toxizität von Schwermetallen im Freiland und in Labor-versuchen. Berlin: *Free University*. Dissertation, 172 pp.
- BISBJERG B., GISSEL-NIELSEN G. (1969): Influence of soil type and plant species. (The uptake of applied selenium by agricultural plants I.) *Plant and Soil* 31 (2) 287-298. p.
- BOROS T. (1997): A kadmium élettani hatási, kezelése hulladékként. *OMIKK Környezetvédelmi füzetek* 1997 (18) 36 pp.
- BRASHER A.M., OGLE R.S.(1993): Comparative toxicity of selenite and selenate to the amphipod *Hyalella azteca*, *Arch. Environ. Contamin. Toxicol.*, 24 182-186. p.
- BROOKENS T.J., HARVEY J.T., O'HARA T.M. (2007): Trace element concentrations in the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) in central and northern California. *Science of the Total Environment*, 372 676–692. p.
- BROWN T., SHRIFT A. (1982): Selenium toxicity and tolerance in higher plants. *Biological Reviews*, 57 59-84. p.
- BROYER T.C., LEE D.C., ASHER C.J. (1966): Selenium nutrition of green plants. *Plant. Physiol.* 41 1425-1428. p.
- BRUNS E. et al. (2001): Bioaccumulation of lindane and hexachlorobenzene by the oligochaetes *Enchytraeus luxuriosus* and *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida). *Hydrobiologia* 463 185–197. p.
- BURNSTEIN Y., SPERLING R. (1970): The chemical identification of S-Hg-S bond mercury protein derivatives. *Biochim.Biophys Acta*, 221 410-412. p.
- CASTRO-FERREIRA MP. et al. (2012): *Enchytraeus cripticus* as model species in soil ecotoxicology. *Chemosphere*, 87 1222-1227. p.
- CAIRNS J. (1986): The myth of the most sensitive species. *Bioscience*, 36 670–672. p.
- CARY E.E., ALLAWAY W.H. (1973): Selenium content of Field crops grown on selenite treated soils. *Agricult. Jour.*, 65 922-925. p.
- CHALUPSKÝ J. (1991): Comprehensive Guide to the Enchytraeidae Taxonomy. Uppsala: *The Swedish University of Agricultural Sciences*, Dissertation
- CLARK L.C., COMBS G.F. (1986): Selenium compounds and prevention of cancer. *Research Needs and public Health Implications*, 116 (1) 170-173. p.
- COLLADO R. et al. (1999): Enchytraeid Reproduction Test (ERT): Different sublethal responses of two *Enchytraeus* species (Oligochaeta) to toxic chemicals. *Pedobiologia*, 43 625–629. p.
- COPPIN F. et al. (2006): Methodological approach to assess the effect of soil ageing on selenium behaviour: first results concerning mobility and solid fractionation of selenium, *Biol. Fert. Soils* 42 379-386. p.
- CSATHÓ P. (1994): A környezet nehézfém szennyezettsége és az agrártermelés. Budapest: MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézet. 176 pp.

- DIDDEN W.A.M., RÖMBKE J. 2001. Enchytraeids as organisms for chemical stress in terrestrial ecosystems. *Ecotox. Environ. Saf.*, 50 25–43. p.
- DIDDEN W.A.M. (1993): Ecology of terrestrial Enchytraeidae. *Pedobiologia*, 37 2–29. p.
- DIPLOCK A.T. (1987): Trace elements in human health with special reference to selenium. *Am. J. Clin. Nutr.* 45 1313-1322. p.
- DODARD S.G., POWLOWSKI J., SUNAHARA G.I. (2004): Biotransformation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by enchytraeids (*Enchytraeus albidus*) in vivo and in vitro. *Environ. Poll.*, 131 263–273. p.
- DODARD S.G., RENOUX A.Y., SUNAHARA G.I. (2003): Lethal and subchronic effects of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) on *Enchytraeus albidus* in spiked artificial soil. *Ecotox. and Environ. Safety* 54 131–138. p.
- DÓZSA-FARKAS K. (2002): Mit érdemes tudni a televényféregkről (Enchytraeidae, Annelida)? *Állattani Közlemények* 87 149–164. p.
- DUNBAR A.M., LAZORCHAK J.M., WALLER W.T. (1983): Acute and chronic toxicity of sodium selenate to *Daphnia magna* Straus, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2 239-244. p.
- EISLER R. (2007): Eisler's Encyclopedia of Environmentally Hazardous Priority Chemicals, Amsterdam: Elsevier 950 pp.
- EGELER P. et al. (2009): Validation of a Soil Bioaccumulation Test with Terrestrial Oligochaetes by an International Ring Test. *Research and Development Project of the German Federal Environmental Agency*, FKZ: 204 67 458 Technical Report 77 pp.
- FEKE M. (1999): Fémsókkal szennyezett területek ugróvillás (*Collembola*) közösségének szabadföldi vizsgálata. Gödöllő: SZIE Állattani és Ökológiai Tanszék, Diplomadolgozat
- FILIMONOVA Z.V., POKARZHEVSKII A.D. (2000): Enchytraeid (*Enchytraeus crypticus*) as a test organism for crude oil contamination of soil. *Bull. Environ. Cont. and Tox.*, 65 407–414. p.
- FISCHER E., KOSZORUS L. (1992): Sublethal effects, accumulation capacities and elimination rates of As, Hg and Se in the manure worm, *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) *Pedobiologia*, 36 172-178. p.
- FISCHER E., et al. (1997): Sublethal effects of an organophosphorous insecticide, Dimethoate, on the isopod *Porcellio scaber* Ltr. *Comp. Biochem. Physiol.*, 116.c 161-166. p.
- FORBES E. V. et al. (2010): Environmentally sensitive life-cycle traits have low elasticity: implications for theory and practice. *Ecological Applications*, 20 (5) 1449-1455 p.
- GIRLING C.A. (1984): Selenium in agriculture and the environment. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 11 37-65. p.
- GISSEL-NIELSEN G., BISBJERG B. (1970): The utilization of various selenium compounds. (The uptake of applied selenium by agricultural plants II.) *Plant and Soil*, 32 (1) 382-396. p.
- GISSEL-NIELSEN G. (1977): Control of selenium in plants. *Riso report No. 370*, Denmark: Riso, National Laboratory
- GOH K.H., LIM T.T. (2004): Geochemistry of inorganic arsenic and selenium in a tropical soil: effect of reaction time, pH, and competitive anions on arsenic and selenium adsorption, *Chemosphere*, 55 849-859. p.
- GONDI F. (1991): Environmental geochemistry: the example of selenium. 5-18. p. In: I. PAIS (ed): *Cycling of nutritive elements in geo- and biosphere*. Budapest: KEÉ

- GONZÁLEZ V. et al. (2011): Application of bioassays with *Enchytraeus crypticus* and *Folsomia candida* to evaluate the toxicity of a metal-contaminated soil, before and after remediation. *J. Soil Sediments* 11 1199-1208. p.
- GUPTA U.C. (1985): Effect of some rare elements on the field and tissue content of the elements for some crops. 83-91. p. In: I. PAIS (ed.): *Proc. Int. Symp. „New results in the research of hardly known trace elements”* Budapest: KEE
- HARGITAINÉ T.Á. (1989): Jelentés: A szelén környezeti hatásának vizsgálata című kutatási témáról. Nyíregyháza: Bessenyei György Tanárképző Főiskola Kémiai Tanszék. 91 p.
- HAY W.J. et al. (1963): Organic mercurial encephalopathy. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry*, 26 199-202. p.
- HEALY W.B., LUDWIG T.G., LOSEE F.L. (1961): Soil and dental caries in Hawke's bay, New Zealand. *Soil Sciencs*, 92 359-366. p.
- HECK, M., RINK, U., WEIGMANN, G. (1995): Blei- und Cadmiumbelastung von Bodentieren in einem immissionsbeeinflussten Forst in der Nähe von Berlin. *Z. Ökologie u. Naturschutz*, 4 75-85 p.
- HORNUNG E., FISCHER E., FARKAS S. (1998): Isopod reproduction as a tool for sublethal-toxicity tests. *Israel J. Zool.*, 44. 445-450. p.
- HÖNEMANN L., NENTWIG W. (2009): Are survival and reproduction of *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae) at risk by feeding on Bt-maize litter? *European Journal of Soil Biology*, 45 351–355 p.
- HUND-RINKE K. et al. (2002a): Bioassays for the ecotoxicological and genotoxicological assessment of contaminated soils (Results of a Round Robin Test). I. Assessment of a possible groundwater contamination: ecotoxicological and genotoxicological test with aqueous soil extracts. *J. Soil and Sediments* 2 43–50. p.
- HUND-RINKE, K. et al. (2002b): Bioassays for the ecotoxicological and genotoxicological assessment of contaminated soils (Results of a Round Robin Test). II. Assessment of the habitat function of soils – Test with soil microflora and fauna. *J. Soil and Sediments* 2 83–90. p.
- HYNE R.V., et al. (2002): Toxicity of Selenomethionine- and seleno-contaminated sediment to the *Amphipod Corophium* sp. *Ecotox. Environ. Safety* 52 30-37. p.
- HYUN S. ET AL. (2006): Selenium (IV) and (VI) sorption by soils surrounding fly ash management facilities, *Vadose Zone J.*, 5 1110-1118. p.
- ISO [International Organisation for Standardisation] (1998): Soil Quality – Effects of Pollutants on Earthworms (*Eisenia fetida*). 2. Method for the Determination of Effects on Reproduction. ISO No. 11268-2.
- ISO [International Organisation for Standardisation] (1999): Soil Quality – Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. ISO No. 11267.
- ISO [International Organisation for Standardisation] (2002): Soil Quality – Effects of Pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.). Determination of Effect on Reproduction. ISO No. 16387.
- ISO [International Organisation for Standardisation] (2008): Soil quality – Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO No. 17512-1:2008
- ISO [International Organisation for Standardisation] (2011): Soil quality – Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 2: Test with collembolans (*Folsomia candida*) ISO No. 17512-2:2011
- IVLEVA I.V. (1953a): Vljányie pitányija na intenzivnoszty razmnozsenyija *Enchytraei*. *Trudi. Latv. Otdel. Vniro* 1 197–203. p.

- IVLEVA I.V. (1953b): Vljanyie temperaturi i vlaznosztyi na raszpregyelenie *Enchytraeid* (*Enchytraeus albidus*, Henle). *Trudi. Latv. Otdel. Vniro.* 1 205–212. p.
- IVLEVA I.V. (1953c): Roszt i razmnozsenye gorsecsnogo cservja (*Enchytraeus albidus*, Henle). *Zool. Zsurnal Moszkau* 32 394–404. p.
- IVLEVA I.V. (1960): Dihanyie belogo enhitreja. *Zool. Zsurnal Moszkau* 39 165–175. p.
- JANSEN M. et al. (2011): Evolutionary ecotoxicology of pesticide resistance: a case study in *Daphnia*. *Ecotoxicology* 20 543–551. p.
- JÄNSCH S., RÖMBKE J. (2003): Ökologische Charakterisierung ausgewählter Enchytraeenarten hinsichtlich relevanter Standorteigenschaften (speziell Bodenparameter). *UWSF-Zeitschrift für Umweltwissenschaften und Schadstoffkund.* 15 95–105. p.
- JENSEN J. et al. (2001): Effect and risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates in agricultural soil. 5. Probalistic risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates in sludgeamned soils. *Environ. Tox. and Chem.*, 20 1690–1697. p.
- JENSEN P.D., RIVAS M.D., TRUMBLE J.T. (2005): Developmental responses of a terrestrial insect detritivore, *Megaselia scalaris* (Loew) to four selenium species. *Ecotoxicology*, 14 313–322. p.
- JENSEN P.D., JOHNSON L.R., TRUMBLE J.T. (2006): Individual and joint actions of selenate and methylmercury on the development and survival of insect detritivore *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 50 523–530. p.
- JUVONEN R. et al. (2000): A battery of toxicity tests as indicators of decontamination in composting oily waste. *Ecotox. and Environ. Safety*, 47 156–166. p.
- KAPUSTA P., SZAREK-ŁUKASZEWSKA G., STEFANOWICZ A.M. (2011): Direct and indirect effects of metal contamination on soil biota in a Zn–Pb post-mining and smelting area (S Poland). *Environmental Pollution*, 159 (6) 1516–1522. p.
- KÁDÁR I. (1995): A talaj-növény-állat-ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel Magyarországon. Budapest: MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézet (Környezet és természetvédelmi kutatások) 388 pp.
- KÁDÁR I. (1998a): A szennyezett talajok vizsgálatáról. Budapest: Környezetvédelmi Minisztérium (Kármentesítési kézikönyv 2.) 185 pp.
- KÁDÁR I. (1998b): Szelén forgalma a talaj-növény rendszerben. 6-19. p. In: CSER M.Á. (Szerk.): *A szelén szerepe a környezetben és egészségvédelemben – konferencia kiadvány*, Budapest: FRAG Bt. 140 p.
- KÁDÁR I. (1999): Szelénforgalom a talaj-növény rendszerben. *Agrokémia és Talajtan*, 48 (1-2) 233–242. p.
- KÁDÁR I., NÉMETH T. (2003): Mikroelem-szennyezők kimosódásának vizsgálata szabadföldi terheléses tartamkísérletben. *Agrokémia és Talajtan*, 52 (3-4) 315–330. p.
- KÁDÁR I., PÁLVÖLGYI L. (2003): Mikroelem-terhelés hatása a napraforgóra karbonátos csernozjom talajon. *Agrokémia és Talajtan* 52. 79–92. p.
- KOMULAINEN M., MIKOLA J. (1995): Soil processes as influenced by heavy metals and the composition of soil fauna. *J. Appl. Ecol.* 32, 234–241 p.
- KUPERMAN R.G. et al. (1999): Comparison of Malathion toxicity using *Enchytraeid* reproduction test and earthworm toxicity test in different soil types. *Pedobiologia*, 43 630–634. p.

- KUPERMAN R.G. et al. (2004): Manganese toxicity in soil for *Eisenia fetida*, *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta), and *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotox. and Environ. Safety*, 57 48–53. p.
- KUPERMAN R.G. et al. (2006): Adaptation of the enchytraeid toxicity test for use with natural soil types, *Eur. J. Soil Biology*, 42 234–243.p.
- KURT L.A. (1961): Nyekatorie vaproszi ekologii pocsvennih maloscsetinkovih cservej cemej cemejsztve Enchytraeidae. *Zool. Zsurnal Moszkau*, 40 1625–1632. p.
- LINDFELD A. et al. (2011): Hard to digest or a piece of cake? Does GM wheat affect survival and reproduction of *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae)? *Applied Soil Ecology*, 47 51–58. p.
- LISK D.J. (1972): Trace metals in soils, plants, animals. *Advances in Agronomy*, 24 267–325. p.
- LISÓCZKINÉ H. J. (2009): Hulladéklerakók mikrobiológiai szempontú jellemzése. Debrecen: Debreceni Egyetem Természettudományi Doktori Tanács, Doktori (PhD) értekezés 125 pp.
- LOCK K. (2002): Bioavailability and toxicity of metals to terrestrial organisms: Extrapolation of laboratory experiments to field situations. Ghent: Univ. of Ghent, Dissertation.
- LOCK K., JANSSEN C.R. (2001a): Tolerance changes of the potworm *Enchytraeus albidus* after long-term exposure to cadmium. *Sci. Total Environ.*, 280 79–84. p.
- LOCK K., JANSSEN C.R. (2001b): Cadmium toxicity for terrestrial invertebrates: Taking soil parameters affecting bioavailability into account. *Ecotoxicology*, 10 315–322. p.
- LOCK K., JANSSEN C.R. (2001c): Zinc and cadmium body burdens in terrestrial oligochaetes: use and significance in environmental risk assessment. *Environ. Tox. and Chem.*, 20 2067–2072. p.
- LOCK K., JANSSEN C.R. (2002a): Multi-generation toxicity of zink, cadmium, copper and lead to the potworm *Enchytraeus albidus*. *Environ. Poll.*, 117 89–92. p.
- LOCK K., JANSSEN C.R. (2002b): The effect of ageing on the toxicity of zink for the potworm *Enchytraeus albidus*. *Environ Poll.* 116 289–292. p.
- LOCK K., JANSSEN C.R. (2002c): Ecotoxicology of Chromium (III) to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus*, and *Folsomia candida*. *Ecotox. Environm. Safety* 51. 203–205.
- LOCK K., DE SCHAMPHELAERE K.A.C., JANSSEN C.R. (2002): The effect of Lindane on terrestrial invertebrates. *Arch. Environ. Cont. and Tox.*, 42 217–221. p.
- MAIER K.J., FOE C.G., KNIGHT A.W. (1993): Comparative toxicity of selenate, selenite, seleno-DL-methionine and seleno-DL-cystine to *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12 755–763.p.
- MARTIKAINEN E. (1996): Toxicity of Dimethoate to some soil animal species in different soil types. *Ecotox. and Environ. Safety*, 33 128–136. p.
- MEGYERI M. (1996): Az ólom hatása az egészségre. Budapest: *OMIKK Környezetvédelmi füzetek 1996 (21)*
- MENGEL K. (1976): A növények táplálkozása és anyagcseréje. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 365 pp.
- NAGY P. (1999): Effects of an artificial metal pollution on nematode assemblage of a calcareous loamy chernozem soil. *Plant and Soil*, 212 35–47. p.
- NIELSEN C.O., CHRISTENSEN B. (1959): The Enchytraeidae. Critical revision and taxonomy of European species (studies on enchytraeidae VII). *Natura Jutlandica.*, 8-9 155–162. p.
- NOVAIS S. C., SOARES A.M.V.M., AMORIM M.J.B. (2010): *Enchytraeus albidus* (Oligochaeta) Exposed to Several Toxicants: Effects on Survival, Reproduction and Avoidance Behaviour. *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry — Biological Responses to Contaminants*. (Eds. N. Hamamura, S. Suzuki, S. Mendo, C. M. Barroso, H. Iwata and S. Tanabe) 237–242 p.

10.14751/SZIE.2013.029

- NOVAIS S. C. ET AL. (2011): Reproduction and biochemical responses in *Enchytraeus albidus* (Oligochaeta) to zinc or cadmium exposures. *Environmental pollution*, 159 (7) 1836-1843. p.
- O'CONNOR F. B. (1962): The extraction of Enchytraeidae from soil. In: Murphy P.W. (ed.) *Progress in Soil Zoology*. Butterworths Publishers, London, 279-285. p.
- OECD [Organisation for Economic Co-operation and Development] (1984): Guideline for Testing of Chemicals No. 207. Earthworm Acute Toxicity Test. OECD. Paris.
- OECD [Organisation for Economic Co-operation and Development] (2003): Guideline for Testing of Chemicals No. 220. Enchytraeidae Reproduction Test. OECD. Paris.
- OECD [Organisation for Economic Co-operation and Development] (2010): Guideline for Testing of Chemicals No. 317. Bioaccumulation in Terrestrial Oligochaetes. OECD. Paris.
- OLDFIELD J.E. (1987): The two faces of Selenium. *J. Nutr.*, 117 2002-2008. p.
- PAIS I. (1998): A szelén helye és szerepe a Bioszférában. 1-5. p. In: CSER M.Á. (Szerk.): *A szelén szerepe a környezetben és egészségvédelemben – konferencia kiadvány*, Budapest: FRAG Bt. 140 pp.
- PAIS I. (1999): A mikroelemek jelentősége az életben. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó 103 pp.
- PATÓCS I. (1990): Occurance of heavy metals, toxic elements in the soil of Hungary. 19-30 p. In: I.PAIS (ed): *New results in the research of hardly know trace elements*. Budapest. KEE
- PHILIPP E. et al. (2006): Bioaccumulation with terrestrial oligochaetes – an international ring test. 15 p. In: J. SCHLAGHAMERSKY (ed): *Abstract Book: „7th international Symposium on Enchytraeid”* Brno. Masaryk Uni. Inst. of Botany and Zoology
- POSTHUMA L., NOTENBOOM J. (2000): Toxic Effects of Heavy Metals in Three Worm Species (*Eisenia fetida*, *Enchytraeus crypticus* and *Enchytraeus albidus*) Exposed in Artificially Contaminated Soil Substrates and Contaminated Field Soils. RIVM Report No. 719102048. Bilthoven.
- POSTHUMA L. et al. (1997): Single and joint toxic effects of copper and zinc on reproduction of *Enchytraeus crypticus* in relation to sorption of metals in soils. *Ecotox. and Environ. Safety*, 38 108–121. p.
- PUURTINEN H. M., MARTIKAINEN E. A. T. (1997): Effect of soil moisture on pesticide toxicity to an enchytraeid worm, *Enchytraeus sp.* *Archive of Environmental Contamination and Toxicology*, 33 34–41. p.
- ROTH M. (1993): Investigations on lead in the soil invertebrates of a forest ecosystem. *Pedobiologia*, 37 (5) 270-279 p.
- ROŽEN A. et al. (2004): Heavy metal concentrations in Enchytraeidae (Oligochaeta) in the Niepo omice Forest. *Ecotox. and Environ. Safety*, 57 81–88. p.
- RÖMBKE J., KNACKER T. (1989): Aquatic toxicity test for enchytraeids. *Hydrobiologia*, 180 235–242. p.
- RÖMBKE J., MOSER T. (1999): Organisation and Performance of an International Ringtest for the Validation of the Enchytraeid Reproduction Test. Vol. I and II. *UBA-Texte* 4/99.
- RÖMBKE J., MOSER T. (2002): Validating the enchytraeid reproduction test: organisation and results of an international ringtest. *Chemosphere*, 46 1117–1140. p.
- RÖMBKE J. (2003): Ecotoxicological laboratory test with enchytraeids: A review. *Pedobiologia*, 47 607–616. p.

- RÖMBKE J. et al. (1994): Comparison of effects of two pesticides on soil organisms in laboratory tests, microcosmos and in the field 229–240. p. In: Donker, M. H.;Eijsackers, H.;Heimbach, F. (Eds.): *Ecotoxicology of Soil Organisms*. Lewis Publ. Chelsea, Michigan. 470 pp.
- RÖMBKE J., RIEPERT F., ACHAZI R. K. (2000): Enchytraeen als Testorganismen. 105–129. p. In: *Toxikologische Beurteilung von Böden*, Spektrum Verlag. Heidelberg.
- RÖMBKE J., NOTENBOOM J., POSTHUMA L. (2002): The effects of zinc on enchytraeids: The Budel case study. *Natura Jutlandica*, 2 54–67. p.
- RÜTHER U., GREVEN H. (1990): The effect of heavy metals on enchytraeids. 1. Uptake from an artificial substrate and influence on food preference. *Acta Biol. Benrodis*, 2 125-131 p.
- SALMINEN J., ERIKSSON I., HAIMI J. (1996): Effects of Terbutylazine on soil fauna and decomposition processes. *Ecotox. and Environ. Safety*, 34 184–189. p.
- SALMINEN J., SULKAVA P.O. (1997): Decomposer communities in contaminated soil: is altered community regulation a proper tool in ecological risk assessment of toxicants? *Environ. Poll.*, 97 (1-2) 45–53. p.
- SALMINEN J., HAIMI J. (1999): Horizontal distribution of copper, nickel and enchytraeid worms in polluted soil. *Environ. Poll.*, 104 (3) 351-358. p.
- SCHÄFER R., ACHAZI R.K. (1999): The toxicity of soil samples containing TNT and other ammunition derived compounds in the Enchytraeid and Collembola Biotest. *Environ. Sci. and Poll. Res.*, 6 213–219. p.
- SCHROEDER, H.A., FROST D.V., BALASSA J.J. (1970): Essential trace metals in man: Selenium. *J. Chron. Dis.*, 23 227-243. p.
- SCHWARZ K., FOLTZ C.M. (1957): Selenium is an integral part of factor 3 against necrotic liver degeneration. *J.Am.Chem.Soc.*, 79 3292-3293. p.
- SCOTT M.K. et al. (1957): Prevention of exudative diathesis by factor 3 in chicks on vitamin E deficient torula yeast diets. *Poultry Sci.*, 36 1155-1156. p.
- SERDA S., FURST A. (1987): Acute toxicity of selenium to earthworms, *Proc. Western Pharm. Soc.*, 30 277-278.p.
- SHARMASARKAR S., VANCE G.F. (2002): Selenite-selenate sorption in surface coal mine environment, *Adv. Environ. Res.*, 7 87-95.p.
- SJÖGREN M., AUGUSTSSON A., RUNDGREN S. (1995): Dispersal and fragmentation of the enchytraeid *Cognettia sphagnetorum* in metal polluted soil. *Pedobiologia*, 39 207–218 p.
- SLIMAK K.M. (1997): Avoidance response as a sublethal effect of pesticides on *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta). *Soil Biol. Biochem*, 29 713–715. p.
- SERDA S., FURST A. (1987): Acute toxicity of selenium to earthworms, *Proc. Western Pharm. Soc.*, 30 (1987) 277-278.
- SOMOGYI Z., BAKONYI G., CSATHÓ P. (2004): A nátrium-szelenit hatása a közönséges televényféregre (*Enchytraeus albidus* Henle, 1837 Oligochaeta: Enchytraeidae). *Állattani közlemények*, 89 (1): 67–71. p.
- SOMOGYI Z. et al. (2005): Mikroelem-terhelés hatása a közönséges televényféregre (*Enchytraeus albidus*). *Agrokémia és Talajtan*, 53 (1-2) 155–164. p.
- SOMOGYI Z. et al. (2007): Toxicity of selenate and selenite to the potworm *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae): a laboratory test, *Ecotoxicology*, 16 379-384.p.

- SOMOGYI Z. et al. (2012): Comparative toxicity of the selenate and selenite to the potworm *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae) under laboratory conditions, *European Journal of Soil Biology*, 50 159-164 p.
- STEFANOVITS P. (1975): Talajtan. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 351 pp.
- SZABÓ S.A., GYÖRI D., REGIUSNÉ M.Á. (1993): Mikroelemek a mezőgazdaságban II. (Stimulatív hatású mikroelemek). Budapest: Akadémia Kiadó 212 pp.
- SZABÓ I.M. (1986): Az általános talajtan biológiai alapjai. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 373 pp.
- SZABÓ Z., NYILASI J. (1981): A szervetlen kémia alapjai. Műszaki Könyvkiadó, Bp.
- SZEGVÁRI I. (2005): Krómterhelés és krómszennyezés vizsgálata talaj-növény rendszerben. Doktori (Ph.D.) értekezés, Debrecen Egyetem, Hankóczy Jenő növénytermesztési és kertészeti tudományok doktori iskola 125 pp. – <http://hdl.handle.net/2437/79510>
- TOSZA E. et al. (2010): Enchytraeid and earthworm communities along a pollution gradient near Olkusz (southern Poland). *European Journal of Soil Biology*, 46 218-224 p.
- TOXRAT LIGHT 2.08: Software for statistical evaluation of biotests in ecotoxicology. ToxRat Solutions GmbH, Germany, Alsdorf
- TÖLGYESI GY. (1969): A növények mikroelem-tartalma és ennek mezőgazdasági vonatkozásai, *Mezőgazdasági Kiadó* 190 pp.
- UNDERWOOD E.J. (1962): Trace Elements in Human and Animal Nutrition. (2nd Ed.). New York: Academic Press Inc, 301. pp.
- N. M. VAN STRAALEN, D. ROELOFS (2008): Genomics technology for assessing soil pollution. *Journal of Biology*, 7 19 <http://jbiol.com/content/7/6/19>
- VERNIE L. N. (1984): Selenium in carcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 738 203-217. p.
- WILLUHN J. et al. (1994a): Cadmium-induced mRNA encoding a nonmetallothionein 33-kDa protein in *Enchytraeus buchholzi* (Oligochaeta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 29 (1) 93-100 p.
- WILLUHN J. et al. (1994b): cDNA cloning of a cadmium-inducible mRNA encoding a novel cysteine-rich, non-metallothionein 25-kDa protein in an enchytraeid earthworm. *J. Biol. Chem.*, 269 (40) 24688-24691 p.
- WILLUHN J. et al. (1996a): Subtoxic cadmium-concentrations reduce copper-toxicity in the earthworm *Enchytraeus buchholzi*. *Chemosphere*, 32 (11) 2205-2210 p.
- WILLUHN J. et al. (1996b): Cadmium-detoxification in the earthworm *Enchytraeus*: Specific expression of a putative aldehyde dehydrogenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 226 128-134 p.
- WESTHEIDE W., SCHMELZ R. (1997): Zur Anwendung nichtkonventioneller Methoden bei der taxonomischen Untersuchung terrestrischer Enchytraeidae (Annelida, Oligochaeta). *Abhandlungen und Berichte des Naturkundemuseum Görlitz* 69 97-113. p.
- WEUFFEN W. (1968): Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und keimwidriger Wirkung. *Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin*, 22 127-132. p.
- WEYERS A. et al. (2002): Statistical results and implications of the Enchytraeid Reproduction Ringtest. *Environ. Sci. and Technol.*, 36 2116-2121. p.
- YANG G. et al. (1988): Selenium-related endemic diseases and the daily selenium requirement of humans. *Wld.Rev.nutr.Diet.*, 55 98-152. p.

10.14751/SZIE.2013.029

YEARDLEY R.B., LAZORCHAK J.M., GAST L.C. (1996): The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. *Environ. Toxic. and Chem.*, 15 1532–1537. p.

ZHONG S. Z. et al. (2009): Bioaccumulation of Total and Methyl Mercury in Three Earthworm Species (*Drawida sp.*, *Allolobophora sp.*, and *Limnodrilus sp.*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83 937–942

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az alábbiakban szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki szakmai segítséggel, bátorítással, kellő időben elhelyezett csípős megjegyzésekkel nem engedett letérni a kijelölt útról és arra ösztönzött, hogy ezt a kutatómunkát kellő alaposággal fejezzem be.

Szeretném kiemelten is megköszöni témavezetőm Dr. Kiss István és konzulensem Dr. Bakonyi Gábor önzetlen szakmai támogatását, lelkiismeretes, kitartó munkáját, hasznos ötleteit mellyel mindvégig biztosították számomra a feladatok elvégzéséhez szükséges feltételeket. Külön köszönöm részükről a hitet, mellyel biztak bennem és ennek a tudományos dolgozatnak az elkészültében.

Köszönöm volt kollégáimnak, Ildikónak, Péternek, Patyusnak, Anikónak, Virágnak, Vikinek a vizsgálatok elvégzéséhez nyújtott nélkülözhetetlen segítségét, lelki támogatását.

Köszönettel tartozom az MTA-TAKI kutatóinak Dr. Kádár Imrének és Dr. Csathó Péternek a szakmai iránymutatásért, Dr. Koncz Józsefnek az intézet akkori laboratórium vezetőjének a talajanalízisekben nyújtott felbecsülhetetlen segítségért.

Természetesen nem utolsó sorban köszönöm szerető feleségem és családom kitartását, mellyel elviselték a sokszor éjszakába nyúló munkákat és támogatását, mellyel tartották bennem a lelket, biztatnak és segítettek.

Nélkülük nem sikerült volna.