

# KÖRNYEZETTOXIKOLÓGIA

Több fajt alkalmazó tesztek:  
Mikrokozmosz, mezokozmosz,  
szabadföldi vizsgálatok



*Dr. Molnár Mónika*  
*Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem*  
*Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék*

## TÖBB FAJT ALKALMAZÓ TESZTEK

- Vízi és szárazföldi ökoszisztéma tesztelése
  - Mikrokozmosz, **mezokozmosz**
  - **Szárazföldi vizsgálatok**



# Több fajt alkalmazó ökotoxikológiai tesztek

## Több fajt alkalmazó tesztek (Callow, 1993)

A bioteszt leírása	Vizsgált tulajdonság
Két baktérium törzs kompetíciós tesztje. 5 napos teszt	<i>a kompetíció eredménye</i>
Mikrobiális préda-predátor teszt. Időtartam: 3-5 hét.	<i>Préda, predátor egyedszáma</i>
Mikrokozmosz tesztek. Időtartam: 3-10 hét	<i>Egyedszám, fajösszetétel, légzés, heterotrof aktivitás,</i>
Mezokozmosz tesztek Időtartam: 5-6 hónap	<i>Egyedszám, fajösszetétel, anyagcsere körforgalmak,</i>

**+ Szabadföldi vizsgálatok**

# Definíciók: mikrokozmosz, mezokozmosz

- **Mikrokozmosz:** kisméretű, sokfajú ökológiai (*laboratóriumi*) tesztrendszer, melynek felhasználási célja, ökotoxikológiai tesztelés, biodegradáció és bioakkumuláció vizsgálata .... A mikrokozmoszban vizsgálhatóak a fajok közötti és a közösségen belüli kölcsönhatások, valamint a biota kölcsönhatása az abiotikus tényezőkkel. Eltérőek lehetnek térfogatukat, méretüket vagy bonyolultságukat tekintve.
- **Mezokozmosz:** a valóságos ökoszisztémát modellező mesterséges rendszer. A mezokozmoszokban minden trófikus szint képviselve van, komplexebb, mint a mikrokozmosz, ezért környezeti realitása nagy, a mezokozmoszban mért eredmények közvetlenül felhasználhatók az ökoszisztéma jellemzésére, az ökoszisztémával kapcsolatos döntésekben. A mezokozmoszt általában a *szabadban* alakítják ki, gyakran a természetes ökoszisztéma izolált és kontrollált részeként.

# Definíciók: trófikus szint, szabadföldi vizsgálatok

- **Trófikus szintek:** a táplálékláncban egymás fölött elhelyezkedő szintek: termelők a növények, elsődleges fogyasztók a növényevő állatok, ezeket fogyasztók a ragadozók. Az elpusztult élőlények (holt szerves anyag) ismételt felhasználhatóságát a detritusz biztosítja biodegradációval és mineralizációval.
- **Szabadföldi vizsgálatok:** az ökoszisztéma vizsgálatának olyan szintje, ami nem modellrendszert, vagy mesterséges rendszert alkalmaz, amelyből extrapolálni kellene a teljes méretű ökoszisztémára, hanem közvetlenül vizsgálja az ökoszisztémát természetes viszonyok között. Alkalmazható ökológiai vagy ökotoxikológiai vizsgálatként, vagy félüzemi léptékű kísérleti technológiaként.

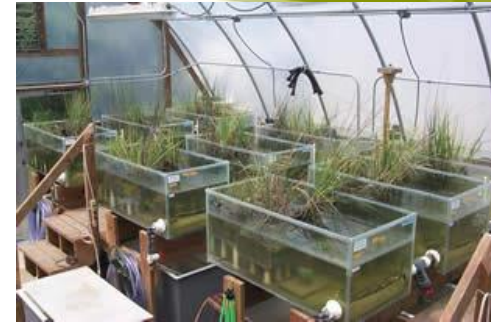


# MIKROKOZMOSZ

# Mikrokozmosz

## Vízi mikrokozmosz

- Standardizált vízi mikrokozmosz
- Rázatotott lombikos mikrokozmosz
- Tavi mikrokozmosz
- Folyami mikrokozmosz
- Szennyvíz tisztító mikrokozmosz



<http://coastalscience.noaa.gov/news/feature/0904.a.spx>

NOAA's National Centers for Coastal Ocean  
Science  
Science Serving Coastal Communities

## Szárazföldi mikrokozmosz

- Gyökér mikrokozmosz
- Talajmag mikrokozmosz
- Talajjal töltött edény
- Talajjal töltött oszlop
- Talaj mikrokamra
- Szárazföldi mikrokozmosz rendszer



<http://njwrr.rutgers.edu/>

The New Jersey Water Resources  
Research Institute

# SAM - Standardized Aquatic Microcosm = szabványosított vízi mikrokozmosz

- 64 nap: 1 hét előkészítés és akklimatizálás → a beoltás algákkal → négy nap elteltével makrogerinctelenek → 7 nap elteltével a vizsgálandó vegyi anyag.
- A tesztelendő anyagot ezután hetente vagy kéthetente ismételten adagolják, a mintavételeket követően.
- Mintavétel kéthetente: oldott tápanyagok mennyisége, vízkeménység, mesterséges ökoszisztéma egyedszámait és fajeloszlását.
- Pontos előírások: a mikrokozmoszba helyezendő fajok típusa, száma. Az algák 10 fajból 103 darabot tesznek a szabványos méretű tesztedénybe induláskor, a többi állatfajt a 4. napon helyezik a rendszerbe. *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Cypridopsis* (kagylósrák), *Hypotrichs* (állati egysejtű=protozoa) és *Philodina* (kerekesféreg) fajok. Egyedszámaik a fenti sorrendben: 16, 12, 6/mikrokozmosz, 0,1 és 0,03/ml.



# SAM - Standardized Aquatic Microcosm = szabványosított vízi mikrokozmosz

- A teszt: 4 literes üvegedények, legalább 12 cm-es szájjal. 500-500 ml tesztközeg. A vizsgált koncentrációk száma 4, az ismétléseké 6.
- Inkubátorban vagy szabályozott hőmérsékletű szobában dolgoznak, 20-25 °C között. Meleg fehér fényel világítják meg. 12 órás megvilágítást 12 órás sötétség követ. A vizes fázis mellé mesterséges üledéket tesznek, melyet kvarchomokból (200g), őrölt kitinből (0,5 g) és cellulózporból (0,5 g) állítanak össze. Ebből 201 g-ot adnak minden tesztedénybe. A pH: 7,0.
- Végpont: algaszám, gerinctelen fajeloszlás, pH, oldott oxigénkoncentráció és tápanyagszint.
- Értékelés: Többváltozós statisztikai módszerekkel.



# Talajmikrokozmoszok

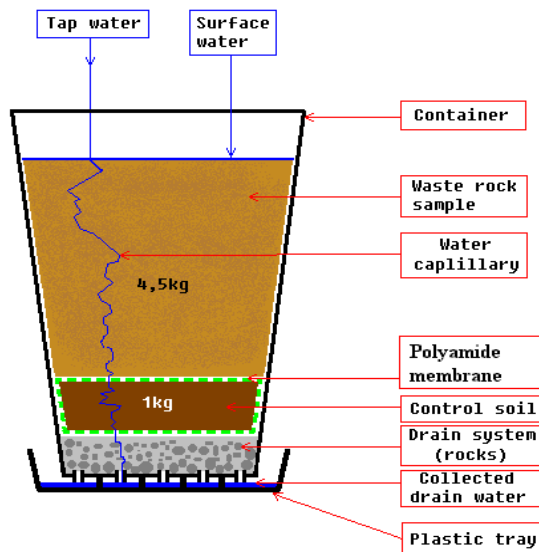
- **A talaj saját aktivitásainak mérése mikrokozmoszban**
  - Nitrogén anyagcsere vizsgálatok
  - Talajenzimek aktivitásának vizsgálata
  - A talaj teljes ATP tartalmának meghatározása
  - Rezisztencia vizsgálatok: rezisztens fajok, adaptálódás
  - Stabilizáció vizsgálata fémmel szennyezett talajokban
  - Feltáródás vizsgálata fémmel szennyezett talajokban
  - Kioldódás vizsgálata fémmel szennyezett talajokban
  - Biodegradáció vizsgálata: biodegradációs tesztek, szénanyagcsere vizsgálatok: CO<sub>2</sub> -termelés és az O<sub>2</sub> -felvétel mérésére...

# Feltáródási mikrokozmosz



- Aktív talajba kerülő toxikus fémtartalmú hulladék, közet, ásvány, üledék, stb. viszonylag gyors feltáródásnak van kitéve, hiszen az aktív talajban a mállási folyamatok gyorsak, a pH- és redoxviszonyok, a biota hatása nagyban elősegíti azokat.
- A feltáródási kísérletek: 5 literes edényekben . A feltáródás szempontjából vizsgált, potenciális talaj szennyezőanyaggal és a referencia talajjal 40, 20, 10 és 5 %-os keverékeket készítünk.
- A céltól és a folyamat sebességétől függően hetenként vagy havonta mintát veszünk és komplex fizikai-kémiai-biológiai-ökotoxikológiai tesztelésnek vetjük alá.
- Az eredmények időbeni változását értékeljük.

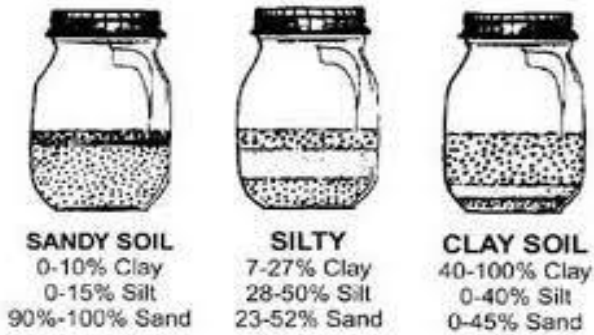
# Talajmikrokozmosz – fémkioldás vizsgálata



- A fémek mobilizálódása mind a kockázat (talajvízre), mind pedig a fémek kioldással történő remediációja során fontos folyamat. Ennek vizsgálatát szolgálják a szakaszos, vagy folytonos kioldást modellező mikrokozmosz kísérletek.
- Szerves v. szervesetlen savakkal kioldás (fermentlé)
- **Egylépcsős, szakaszos fémkioldási eljárás – rázatott Erlenmeyer lombik**
- **Többlépcsős, szakaszos kioldási eljárás - rázatott Erlenmeyer lombik**
- **Folyamatos fémkioldás – töltött oszlop v. cserép**
- **Mérés: pH, redoxpotenciál, fémtartalom**

# Talajmikrokozmoszok biodegradáció követésére és jellemzésére

- Statikus és dinamikus rendszerek



# MEZOKOZMOSZ



# Mezokozmosz

- Átmenet a (laboratóriumi) mikrokozmosz és a szabadföldi vizsgálatok között
- Szabadföldön létrehozott *mesterséges* rendszerek
- Példa: vizsgált kemikáliával szennyezik → változások követése
- Méret



<http://www.pesticidemodels.eu>

# Mezokozmosz

- Trófikus szintek
- Komplexitás → környezeti realitása nagy
- „Történelme van”
- Mért eredményei közvetlenül felhasználhatók az ökoszisztéma jellemzésére
- Megfigyelés vagy kísérlet



*Forrás:*<http://botany.wisc.edu/u/zedler/lawrence.html>



*Forrás:*<http://sciencetrio.wordpress.com/2012/02/01/road-salts-second-sting/>

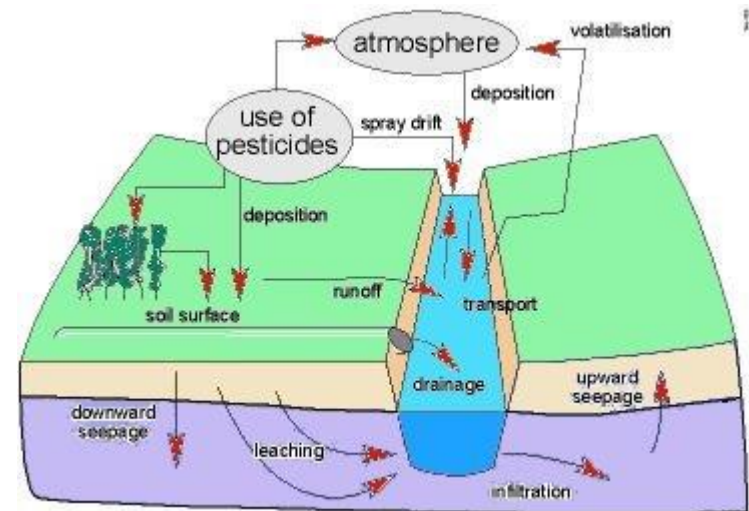


# Mezokozmosz

- Szabadban de a természetes ökoszisztéma izolált és kontrollált részeként
- Természetes behatások érik
- Alkalmazás széleskörű
- Költséges
- Eredmények értékelése, szaktudás



<http://www.pesticidemodels.eu>



# Mezokozmoszok



<http://www.cas.muohio.edu/erc/research.html>

Leggyakoribb megoldásai: mesterséges édesvízi folyam, általános édesvíz, mesterséges mocsár, szimulált mezőgazdasági víztározó, mesterséges kert, mesterséges erdő, stb.



<http://www.reading.ac.uk/blogs/urbanpond/>



# Mezokozmosz

- Édesvízi folyamok mesterséges kialakítására szabadtéri édesvízi mezokozmoszt alkalmazhatunk.



<http://www.provincia.bz.it/agenzia-ambiente/acqua/metodo-analisi.asp>



<http://www.ufz.de/index.php?en=5623>

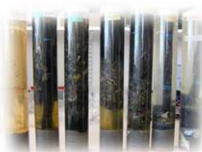
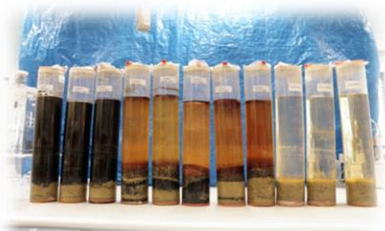
Das Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ)



- Mesterséges folyam
- Makrozobentosz tanulmányozása
- 20 m, 1000 L, 20 párhuzamos
- Folyamatos működés
- Zárt vízrendszer

# Mezokozmosz – savas bányavíz kezelésére 2.

- Savas bányavíz kezelése



<http://www.miwer.org/restoration.htm>

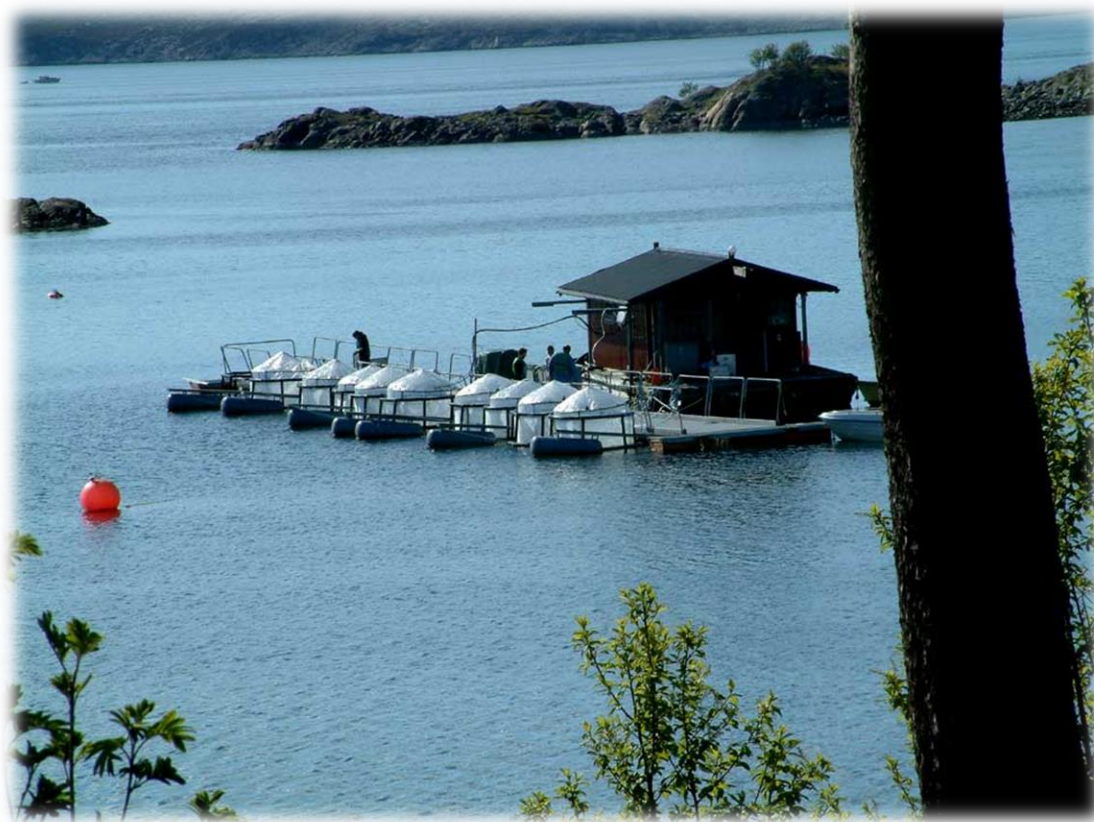
Australia

Mezokozmosz kísérletek technológia-hatékonyság értékelésére (12 db, 1200 L-es mezokozmosz)

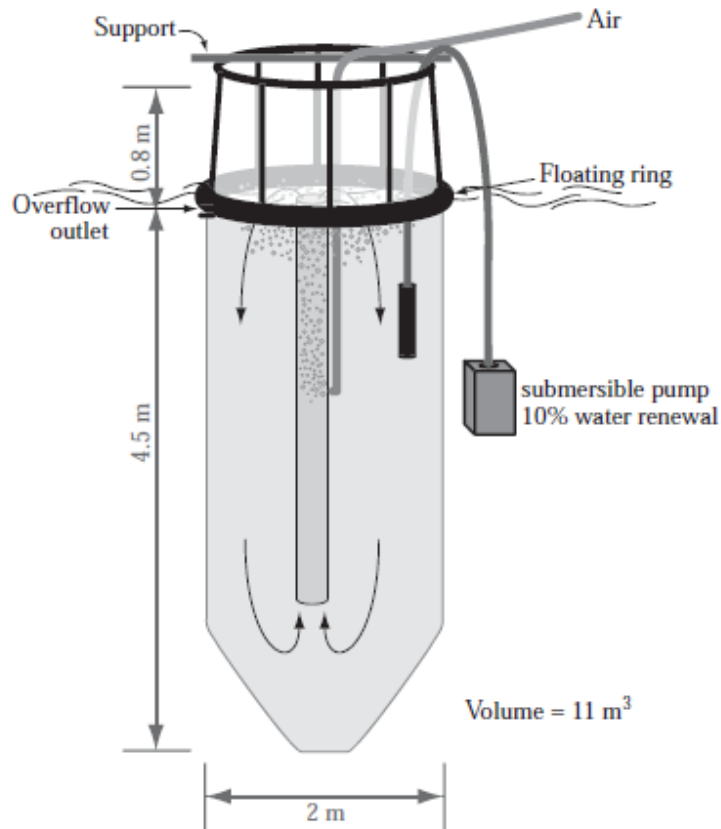
# Mezokozmosz – tengeri ökoszisztéma

- Mezokozmosz – Norvégia (tengerkutató)
- A légköri CO<sub>2</sub>-szint emelkedés közvetlen hatása a tengeri ökoszisztémákra

<http://mesocosm.eu/>



# Mezokozmosz – tengeri ökoszisztéma



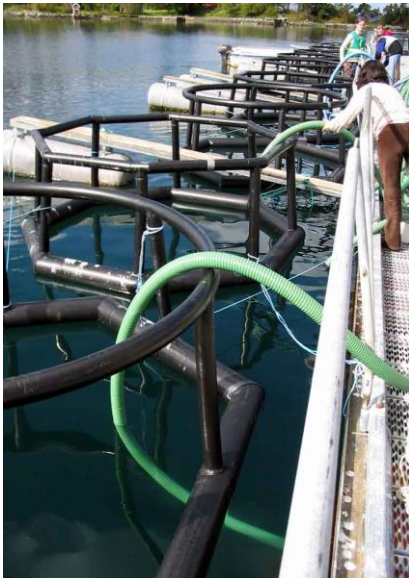
<http://mesocosm.eu/>



Effects of ocean acidification, temperature and nutrient regimes on the appendicularian *Oikopleura dioica* : a mesocosm study. Christofer Troedsson, Jean-Marie Bouquet, Carla M. Lobon, Aliona Novac, Jens C. Nejstgaard Sam Dupont, Suncica Bosak, Hans H. Jakobsen, Nadezda Romanova, Lene M. Pankoke, Alejandro Isla, Jorg Dutz, Andrey F. Sazhin, Eric M. Thompson (2012)

# Mezokozmosz – tengeri ökoszisztéma

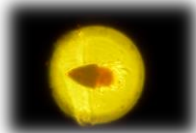
- Mezokozmosz –Norvégia (tengerkutató) <http://mesoaqua.eu/espegrend>



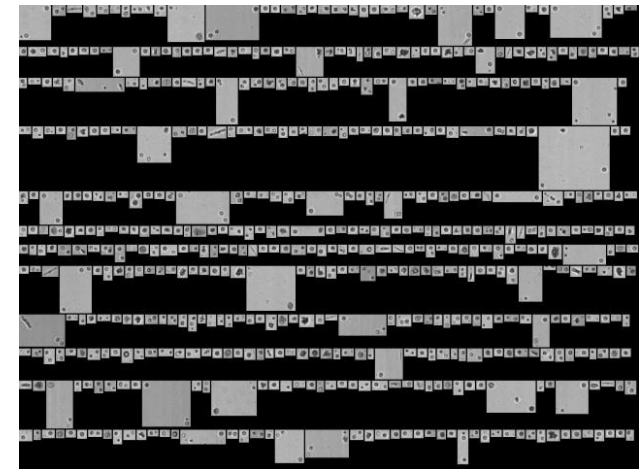
<http://mesocosm.eu/>

# Mezokozmosz – tengeri ökoszisztéma

- Ostorosok, csillósok és a stressz
- Fitoplankton összetétel



21 nap után, kis *Fe* szint





# Mezokozmosz – Élőgép

- Komplex gép-élőlény ökoszisztéma
- Épített ökoszisztéma → szennyvizek, szennyezett felszín alatti vagy élővizek tisztítására.
- Aktív mezokozmosz
- → működni képes élőközösség: mikroorganizmusok, állatok, növények



*Ethel M Living Machine 1*



# Mezokozmosz – Élőgép

- Növények szerepe...
- Növények → szerves anyagok mineralizációja
- O<sub>2</sub> bejuttatás gyökérzettel
- Nincs eutrofizáció (nitrát és foszfát élővízbe kerülése) és anaerobitás (oxigénhiány).
- Élőhely növelése gyökérzetükkel (fajlagos felület ↑)
- Esztétika, szag

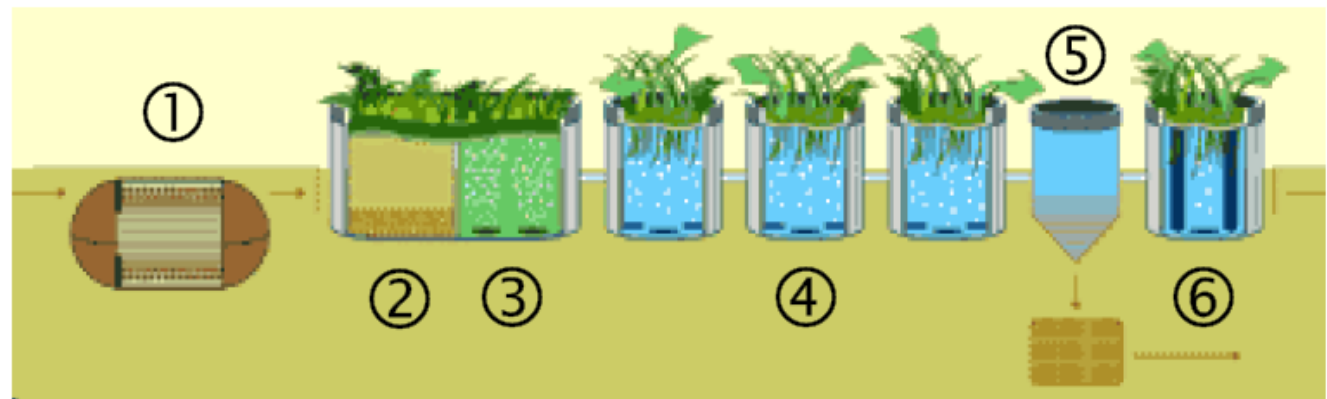


ORGANICA ZRT



# Mezokozmosz – Élőgép

- Reaktorok
- Alapfolyamatok: szűrés, adszorpció, nitrifikáció, denitrifikáció, volatilizáció, and anaerob and aerob degradáció...
- [Livingmachines.com](http://www.livingmachines.com)
- <http://www.livingmachines.com/Animation.aspx>



Source: Living Machines Inc., 2001.

**FIGURE 1 THE COMPONENTS OF THE LIVING MACHINE®: (1) ANAEROBIC REACTOR, (2) ANOXIC REACTOR, (3) CLOSED AEROBIC REACTOR, (4) OPEN AEROBIC REACTORS, (5) CLARIFIER, AND (6) "ECOLOGICAL FLUID BED"**

# Mikrokozmosz és mezokozmosz tesztek összefoglaló jellemzői

**Méret:** 0,1 litertől ....

**Történelmük van:** az ökoszisztémákhoz hasonlóan időben irreverzibilisek.

**Trófikus szintek:** trófikus szerkezet, egyszerűtől a valóságosig. Kölcsönhatások.

**Evolúciós események szintere:** pl. rezisztencia fellépése

**Ismétlés:** ?

**Új metabolikus útvonalak fejlődhetnek ki:** pl. xenobiotikumok biodegradációjára

**Redukált komplexitás jellemzi** a reális környezethez képest (pl. fajok száma)

# Mikrokozmosz és mezokozmosz tesztek összefoglaló jellemzői

•**Dinamika:** a kis térfogatba kényszerítés megváltoztatja a dinamikát (a hatások megkülönböztetése a toxikus hatásoktól)

•**Heterogenitás:** természetes ökoszisztémák → a hely és idő szerinti heterogenitás → a fajok változatossága és gazdagsága.

A mesterséges ökoszisztémák → törekszünk a homogenitásra, hogy megőrizzük a statisztikai értékelhetőséget.

•**Értékelés:** többváltozós statisztikai módszer szükséges az összefüggések feltárására

# Szabadföldi vizsgálatok



# Szabadsföldi vizsgálatok 1.

**Az ökoszisztémát célzó vizsgálatok → a közösséget vizsgáljuk.**

Például:

- a fajok számát és eloszlását (diverzitás)
- bioakkumulációt
- indikátor fajokat, melyekről tudjuk, hogy jelentős információt hordoznak...

## Szabadsföldi vizsgálatok 2.

- Direkt módon vizsgáljuk a szabadsföldi viszonyokat.
- Magában foglalja a biológiai szervezetek minden szintjének vizsgálatát.
- Környezeti paraméterek.
- Legnagyobb a **környezeti realizmusa**.
- **Költséges és egy sor nehézséggel állítja szembe a kutatót.**
- Megfigyelés vagy kísérlet.



# Szabadszíri vizsgálátok - biomonitoring

## Biológiai monitoring

- Környezetmonitoring céljára alkalmazott biológiai módszerek összessége.
- Alapulhat egyetlen tesztorganizmust (laboratóriumi ökotoxikológiai teszt) vagy életközösséget alkalmazó / vizsgáló teszten

Alapulhat helyszíni, ún. *in situ biológiai* vizsgálátokon:

- **aktív biomonitoring során** a kiválasztott fajok izoláltan és kontrolláltan felnevelt egyedeit helyezük a környezetbe,
- **passzív biomonitoring esetén, a területen él fajokat** vizsgáljuk.

# Biomonitoring

## Vizsgálható paraméterek

1. a közösség összetétele és működése: fajösszetétel, fajsűrűség, érzékeny fajok kihalása, tápláléklánc, a teljes ökoszisztéma anyag- és energiaforgalma;
2. az életközösség genetikai jellegzetességei: rezisztens fajok megjelenése, genetikai jellemzők, DNS ujjlenyomatok;
3. a bioakkumuláció;
4. a biodegradáció;
5. biomarkerek: stresszfehérjék, metallotionein...

# Szabadszíri vizsgálátok - példák

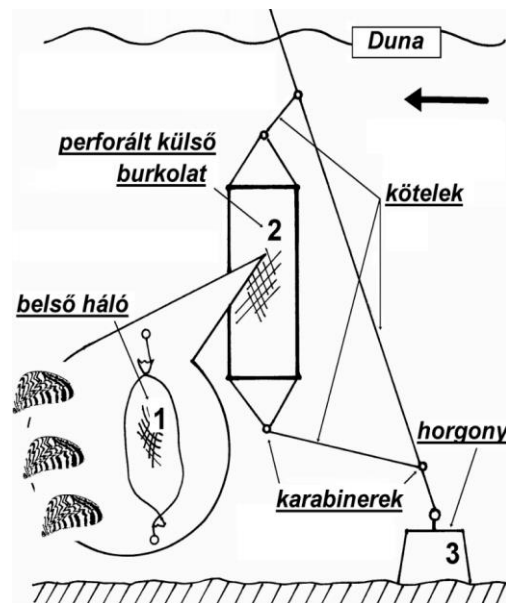
- **Bioindikációs kísérletek:** a területre jellemző indikátor fajok legkülönbözőbb jellemzőit vizsgálják, mint
  - kihalás,
  - betelepedés,
  - invázió,
  - fiziológias változások.
- **Bioakkumulációs tesztek:**
  - Passzív és
  - aktív módszerek.



[http://www.mwra.state.ma.us/harbor/graphic/mussel\\_retrieval.jpg](http://www.mwra.state.ma.us/harbor/graphic/mussel_retrieval.jpg)

# KAGYLÓ – bioakkumuláció vizsgálata Dunában

- Fémek bioakkumulációjának vizsgálata
- A vándorkagyló (*Dreissena polymorpha*) lokális populációinak nehézfém-koncentrációi
- Nagy akkumulációs képesség



# KAGYLÓ, mint szabadföldi tesztorganizmus

- **Kagyló – szennyezettség vizsgálata**

- *Kagylómonitor (Musselmonitor)*

- Korai figyelmeztető rendszer
  - Szennyezett víz – kagylóhéj zárás
  - Kagylóhéjra indukciós elektromágneses egységek
  - *Musselmonitor*:

<http://www.youtube.com/watch?v=0B8qbrW8FsM>



- **Bioakkumuláció vizsgálata**

- Passzív módszerek (területen élő fajok), aktív tesztek (betelepített fajok) A felhasznált behatási idő: tesztorganizmus → kémiai analízis → akkumulált szennyezőanyag mennyisége

<http://oceantoday.noaa.gov/chemicalcontaminants/>

Légszennyező anyagok

# KÖRNYEZETTOXIKOLÓGIAI TESZTELÉS - BIOMONITORING

**Lehetőségek és megoldások**

**Bioindikáció**

# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

## Biológiai indikátorok

- A biológiai monitoring alapja a biológiai indikáció.
- A **biológiai indikátorok** → jelzik a környezetben végbemenő változásokat → nyitott rendszerek
- Előfordulásuk, életképességük és reakciójuk a terhelés hatására változik.
- A levegő minőségének zuzmó segítségével történő megállapítása -biológiai monitoring



# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

- Zuzmók igénytelen élőlények → szélsőséges körülmények.
- 2 fő csoport: toxitoleráns és szenzitív
- Egyes fajok különleges érzékenységgük → alkalmasak a légszennyeződés vizsgálatára
- Számos zuzmófaj (mint akkumulációs indikátor) gyűjtésével kimutathatók a nehézfémek és a radioaktív anyagok is.
- Érzékenység: a gombákból és algákból / fotobionta moszatokból álló telepeik működése csak akkor zavartalan, ha telítve van vízzel.

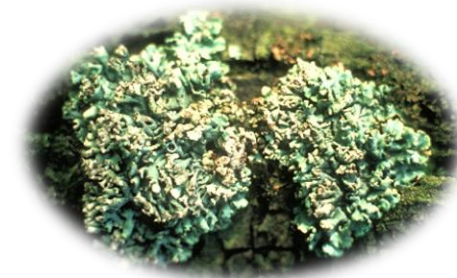




# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

## A légszennyezés zuzmókra kifejtett hatásai

- *Kívülről is megfigyelhető hatások:*
  - A telep színe, nagysága, vastagsága változik
  - A zuzmótársulások fajszáma csökken, faji összetétele megváltozik
- *Anatómiai hatások:*
  - Az algasejtek elpusztulnak, vagy méretük csökken
- *Fiziológiai hatások:*
  - Csökken az asszimiláció és a légcsere, változik a víztartalom, csökken a N beépítése



<http://www.tankonyvtar.hu/>

Szennyezőanyag koncentráció növekszik → klorofilltartalom-csökkenés, pH változás, Mg kioldódás, növényi szövetek elhalnak...

# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

## Zuzmótérképezés

Első lépésként a vizsgálandó területen ki kell választani a mintavételi pontokat, a fákat.

Olyan fákat kell választani, melyek:

- Egy-két fajhoz tartoznak (pl. akác és nyárfa)
- Hasonló korúak
- Egyenes törzsűek
- 10 méteres környezetükben nem található semmi zavaró tereptárgy (fa, kő-vagy deszkakerítés, bokrok, stb.)
- kérgük egészséges



# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

## Zuzmóterképezés

- A fákat 50 cm-től 200 cm-ig terjedő magasságban kell vizsgálni, mely „sáv” egyúttal a az emberek többségének életterét is jelenti.
- Az akác és a nyárfa vizsgálata → mindkét fa gyakori sorfa. (Pl. ostorfa, platán nem jó)
- A megadott kritériumok alapján vizsgált zuzmótársulásokat a Levegőminőség-index (LMI) mérőszámmal jelöljük.
- Ennek kiszámításakor az egyes zuzmófajok pl.kén-dioxidra való érzékenységét és a mintavételi helyek zuzmóval való teljes borítottságát vesszük alapul.

# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

- Zuzmóterképezés

Levegő minőség-index (LMI)

- $LMI_n = Z_{\Sigma} * B$

Ahol:

- n – a mintavételi pontszám
- $Z_{\Sigma}$  - az adott fán található zuzmótaxonok (faj, család) Z- értékeinek összege.

Minden zuzmótaxonhoz egy saját Z-értéket rendelünk 1-10-ig, ismert érzékenységük alapján.

- B – a fa teljes zuzmóborítottsága, százalékos értékek alapján 1-10-ig pontozva



# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

- **Zuzmóterképezés**
- A mérési eredmények alapján öt különböző típusú zónát különböztetünk meg a zuzmóterképeken (általában)
- A zónákat az LMI értékek alapján szabják meg, melyeket a szemléletességért különböző színekkel jelölnek:
  1. 0 Zuzmósivatag (sárga)
  2. 1-35 Belső küzdelmi zóna (piros)
  3. 36-55 Középső küzdelmi zóna (narancs)
  4. 56-79 Külső küzdelmi zóna (világoszöld, kék)
  5. 80- Normal zóna (sötétzöld)



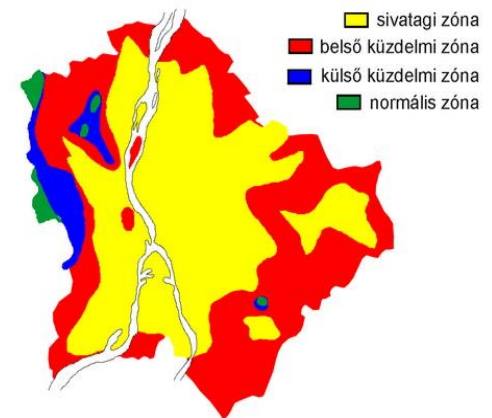
# Levegőmonitoring zuzmókkal (KÖRINFO)

- Zuzmótérképezés

Az LMI meghatározását követően :

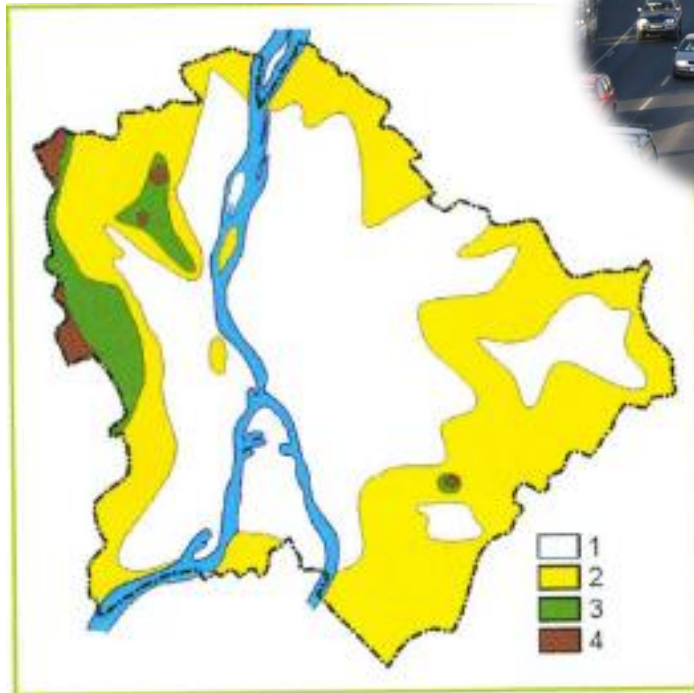
- a területi térképen jelölni kell a mintavételi helyeket (fákat) adott sorszámuk megadásával.
- Az azonos LMI zónába tartozó mintavételi helyeket össze kell kötni egy-egy vonallal (izovonal)

Az izovonalak rajzolják ki a vizsgált település légszennyezettségi viszonyait tükröző zuzmótérképet.

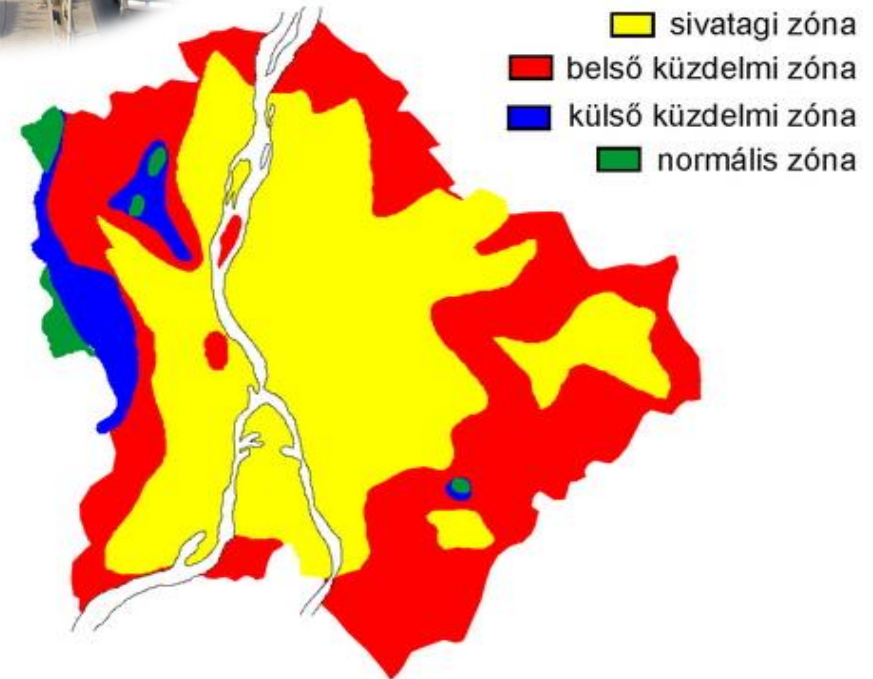


# Levegőmonitoring zuzmókkal (Zuzmótérkép)

## Zuzmótérkép



Budapest zuzmótérképe 1982-ből  
(1: zuzmósivatag, 2: belső küzdelmi zóna,  
3: külső küzdelmi zóna, 4: normál zóna)



# IRODALOM

- Gruiz Katalin, Horváth Beáta, Molnár Mónika: **Környezettoxikológia:** Vegyi anyagok hatása az ökoszisztémára. Műegyetemi Kiadó, 2001 (ISBN 963 420 676 x)
- Landis, W.G. and Yu, M.H. (2003) Introduction to Environmental Toxicology: impact of chemicals upon ecological systems, 3rd. Edition. CRC Press LLC, New York, Boca Raton, Florida
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (1981) Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris
- [www.korinfo.hu](http://www.korinfo.hu)
  - Képtár és E-tanfolyam – gyakorlati alkalmazás, talaj és felszín alatti víz, biológiai-ökológiai és környezettoxikológiai felmérés/monitoring
  - Adatbázisok – biológiai, ökotoxikológiai felmérési és monitoring módszerek



**KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!**

