



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

Magyar Agrár- és Élettudományi Egylet

**Gyűrűsféreg (Annelida) akut
ökotoxikológiai teszt módszer
optimalizálása a talaj, mint élőhely
minősítéséhez,
a vörösiszap, mint talajjavító anyag
vizsgálatának példáján bemutatva**

Doktori értekezés tézisei

DOI: 10.54598/002820

Készítette: Kerekes Ivett Kriszta

Gödöllő
2022

A doktori iskola

megnevezése: Biológiatudományi Doktori Iskola

tudományága: Biológiatudományok

vezetője: Dr. Nagy Zoltán
egyetemi docens
MATE, Növénytermesztéstudományok Intézet

Témavezető(k): Dr. Boros Gergely
egyetemi adjunktus,
MATE, Állattani és Ökológiai Tanszék

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető(k) jóváhagyása

Az értekezés tézise 15 példányban készült. Ez a ... számú példány

1.Bevezetés és célkitűzések

A vörösiszap az alumínium gyártás során keletkező ipari hulladék, amelyből évente megközelítőleg 120 millió tonna termelődik (http1). Attól függően, hogy milyen alapanyagból és eljárással készül az alumínium, a keletkező vörösiszap tulajdonságai eltérhetnek, de általánosságban minden vörösiszatra jellemző az erősen lúgos kémhatás, a nagy víztartóképeség és a nagy mennyiségű szervesetlen elemtartalom.

Annak ellenére, hogy az anyagot az ipari technológiában, vagy talajjavító-adalékanyagként is fel lehetne használni (Power és mtsai. 2011; Ferguson, 2014; Evans, 2016), ez nem jellemző. Jelenleg az előállított mennyiség nagy részét hulladékként tárolják, pedig a tárolás során fellépő balesetek mind környezet-, mind pedig humánegészségügyi szempontból magas kockázattal bírnak (Yuzhakova és mtsai. 2013).

A talajsavanyodás a Föld 30%-át érintő probléma (Kunhikrishnan és mtsai. 2016). A vörösiszap talajjavító anyagként történő újrahasznosításával nemcsak a talajegészséget lehetne költséghatékonyan fejleszteni, hanem a tárolásból fakadó kockázatokat is csökkentené (Kunhikrishnan és mtsai. 2016; Ujaczki és mtsai. 2016). Doktori munkám során egyik célom volt annak a vizsgálata, hogy a vörösiszappal történő talajjavítás miként befolyásolhatja a rossz vízháztartású és/vagy savanyú talajokat, mint a gyűrűsféreg populációk élőhelyét.

Mivel a kezelésétől függően (pl.: semlegesítési eljárások) a vörösiszap máshogy viselkedik, így a vizsgálataimat két típussal végeztem: egy kezeletlennel (2016-os, tározóból származó), illetve ennek kezelt párjával (2016-os 2% gipsszel semlegesített).

Irodalmi eredmények szerint a vörösiszapok potenciális toxicitása eltérő a különböző tulajdonságú talajok esetén (Sanderson és mtsai., 2014), így munkám során három eltérő tulajdonságú, hazai természetből származó talajhoz keverve vizsgáltam (savanyú homoktalaj, neutrális homoktalaj, közel neutrális vályogtalaj).

Figyelembe véve azt a tényt, hogy a szabadon élő gyűrűsféregfajok jelentősen eltérő testméretűek, a munkám során az ökotoxikológiai tesztek egy nagy testméretű (*Dendrobaena veneta*) és egy kis testméretű (*Enchytraeus albidus*) tesztfajjal is elvégeztem.

Mivel a szabadon élő gyűrűsféreg képesek aktívan elvándorolni egy területről, a munka során szükségesnek tartottam a hagyományosan alkalmazott, szabványosított teszt módszerek mellett új, alternatív végpontot használni, mivel több információt tudtam nyerni a xenobiotikum szubletális hatásairól. Az alternatív végpont bevezetése a meglévő szabvány teszt módszerek módosítása alapján, azok kiegészítése mellett történt, az alkalmazhatóságának vizsgálatát követően. A fent leírtak szerint célkitűzéseimet két fő tevékenység köré rendeztem: I: a teszt módszer fejlesztése és kiegészítése; illetve II: a vörösiszap talaj-adalékanyagként való vizsgálata természetes talajok esetén, gyűrűsféreg fajokon végzett ökotoxikológiai tesztek alkalmazásával.

Tesztmódszerek fejlesztésével foglalkozó célkitűzés: I.1. A hagyományos mortalitási vagy szaporodásgátlási tesztek során olyan szubletális végpont kifejlesztése (mozgás-frekvencia), amely információt ad az állatok menekülési viselkedésének, ezáltal az aktív elvándorlás lehetőségének, megváltozásáról: megvizsgálni, hogy a végpont mérése kellő precizitással ismételtető-e. Továbbá megvizsgálni, hogy a végpont mérésére kitalált módszer kellő megbízhatósággal alkalmazható-e.

A vörösiszap környezettoxikológiai hatásainak felméréséhez kapcsolódó célkitűzések :II.1. A vörösiszap talajba történő adagolásával azok fizikai és kémiai tulajdonságok (kémhatás, víztartóképeség, fémtartalom) megváltozásának vizsgálata. II.2. A vörösiszap akut letális és szubletális hatásainak felmérése televényféreg (*E. albidus*) és földigiliszta-féle (*D. veneta*) tesztfajok alkalmazásával.

2. Anyag és módszer

2.1. Vizsgált vörösiszapok és talajok

A vizsgálatok során két vörösiszapot vizsgáltam, amelyek ma már nem működő magyarországi üzemből származtak (É:47°5'19"; K: 17°32'52"): tározóból származó, kezeletlen minta (T) és kezelt minta (G), amely vízmentesítés után 2% gipsszel semlegesítve lett. A kísérletek során OECD modelltalajt (OECD 220) és három természetes talajt is használtam, amelyek a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóintézet Talajtani Osztályának hazai mintaterületeiről származtak: Nagyhörcsök (NH, pH=7,6, vályog), Nyírlugos (NY, pH=4,9, homok), Örbottyán (OB, pH=7,7, homok).

2.2. Tesztorganizmusok

A nagyobb testméretű gyűrűsféreg, a *Dendrobaena veneta* (Rosa, 1886) tesztfaj egyedeit speciális boltból (élő csali forgalmazó) szereztem be. A faj azonosítását a kísérletek megkezdése előtt az Eszéki Egyetem Biológiai tudományi Tanszékének szakértője (Davorka Hackenberger) végezte el, 2015-ben. Tesztelés előtt az állatokat 14 napig az eredeti közegükben sötétben kondicionáltam, majd 48 óráig szűrőpapírral bélelt dobozban éheztettem.

A közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus* Henle, 1837) fenntartó tenyészetekhez az ivarérett petés nőstény példányok a Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem (volt Szent István Egyetem) 2016-os törzstenyészetéből származtak. Tesztelésre az adott vizsgálathoz készített szinkron tenyészetekből kevert teszttenyészeteket készítettem. Csak az olyan OECD szabvány szerint megfelelő adult állatokat használtam fel (OECD 220), amelyeknek a hossza minimum 1 cm volt.

2.3. Alkalmazott vegyszerek és egyéb laboratóriumi anyagok, programok

Talajkivonat készítésekor a hatályos szabványnak megfelelő laboratóriumi szűrőpapírt használtam. A mozgás-frekvencia teszt ismételhetőségét és alkalmazhatóságát vizsgáló kísérletsorozatnál referencia anyagként réz-szulfát ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) oldatot használtam. Oldószerként és az ökotoxikológiai tesztek során nedvesítésre desztillált vizet alkalmaztam. A disszertációban bemutatott diagramok a Microsoft Excel, a TIBCO Statistica 13.4 és a Rx64 3.4.1 programokkal készültek. Az egyes tesztek leírása alatt részletesen bemutatott statisztikai modellek és próbák a TIBCO Statistica 13.4 és a Rx64 3.4.1 programokkal készültek.

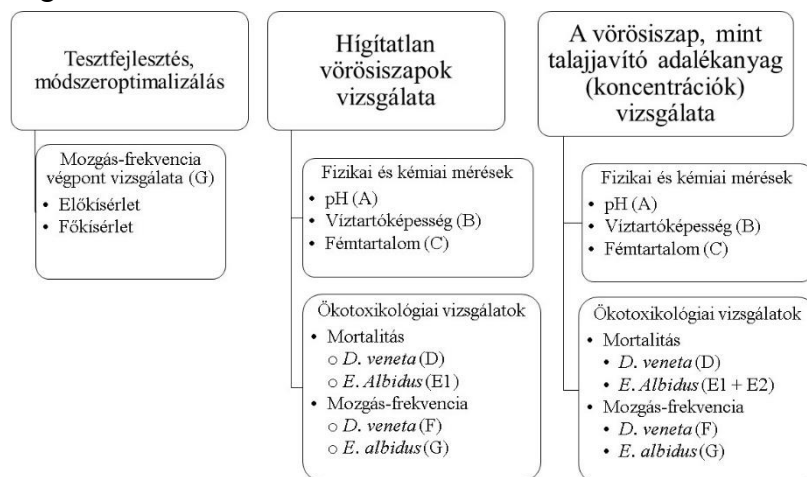
2.4. Minták előkészítése

A szilárd halmazállapotú vörösiszapot üvegtálcákban, szobahőmérsékleten teljesen vízmentes állapotúra szárítottam. A szárított mintákat dörzsmozsárban elporítottam, majd 2 mm lyukátmérőjű szitán átszitáltam. A dörzsmozsárban el nem porítható anyagokat eltávolítottam a mintából. A folyamatot addig ismételtam, amíg

homogén por formájú anyag állt a rendelkezésemre. Kontroll anyagként a kezeletlen talajok megegyező módon készült porított formáját használtam. A koncentrációk beállítása tömegmérés alapján, a szilárd halmazállapotú, porított minták összekeverésével készültek. A szilárd halmazállapotú minták vizsgálata mellett, egyes tesztekben talajkivonatokat és talajszuszpenziókat is vizsgáltam. Szuszpenzió- és extraktum készítésre a por formájú mintákat használtam fel. Mindkét esetben a MSZ 21978-9:1998 szabvány szerint készültek.

2.5. Elvégzett kísérletek átfogó ismertetése

A kísérleteket a MATE és a BME laboratóriumaiban 2017–2021 között végeztem. A kísérleti beállításokat a 1. ábrán mutatom be



1. ábra- Elvégzett kísérletek az egyes kísérleti szakaszokban
(x): alkalmazott tesztmódszer jele

Modelltalajt csak a mozgás-frekvencia teszt optimalizálása során elvégzett tesztek során alkalmaztam. A mozgás-frekvencia végpont vizsgálati módszerének értékelésekor a teszt precizitását (Gage R&R vizsgálat) és alkalmazhatóságát mértem fel. A precizitás az időbeli ismételtetőséget (több időpontban pontos) és a reprodukálhatóságot (több személy által elvégezve pontos) foglalja magában. Az alkalmazhatóság vizsgálatokor azt elemeztem, hogy ökotoxikológiai szempontból mennyire lehet ugyanolyan következtetéseket levonni. A méréseket modell (OECD) talajjal és CuSO₄ referencia szennyezővel végeztem el. Az előkísérlet során 0, 24, 48, 60, 96, 120, 240, 2400, a főkísérletek során 0, 24, 48, 60, 96, 120, 240 mg/kg koncentrációkat vizsgáltam meg. A főkísérletek értékelését 3 megfigyelő 2 időpontban, 3 hét különbséggel történt méréseiből készítettem el.

A két hígítatlan vörösiszap esetén kontrollként a kezeletlen vályog talajt (NH-K) használtam, mivel az irodalmi adatok alapján (pH, vízretartóképesség) ez rendelkezett az állatok számára a legjobb életfeltételekkel. A vörösiszap koncentrációk vizsgálatokor mindkét vörösiszapot mindhárom természetes mintatalajba keverve megvizsgáltam a felsorolt tesztekkel (1. ábra). Csak a három forma (porított talaj, talajszuszpenzió és talajextraktum) vizsgálata kivétel, amelyet

kizárólag a toxikusabb vörösiszap talajba kevert koncentrációval végeztem el. Mindhárom talajba az összes vörösiszap koncentrációt bekeverve azok hatásait felmértem. A vörösiszap koncentrációkat a kísérleti szakasz megkezdésekor, egy adagban, egyszer és egyszerre készítettem el. Minden kísérlethez ezt használtam fel. A három ismétlés egyazon bekeverésből származik. Az ismétléseket a vizsgálatok során véletlen sorrendben készítettem el illetve mértem le.

2.6. Fizikai és kémiai mérések

A: A pH mérésnél a MSZ 21470/2:1981 szabvány szerint dolgoztam.

B: A víztartóképeség mérést az MSZ 21470-2:1981 visszavont módszere alapján, módosításokkal végeztem el. Minden porított mintából 3×25 g-ot vízáteresztő membránnal ellátott 2 cm átmérőjű műanyag csőbe mértem. A mintákat 1 órára derítésig feltöltve vízfürdőbe, utána 3 órára homokágyra helyeztem. Minden csőből 2 g mennyiséget izzító tégelybe mértem, majd 24 órára 105°C-os szárítókamrába tettem. Szárítás után újra lemértem és a kapott tömegkülönbség felhasználásával számoltam ki a víztartó képességet.

C: A fémtartalom méréshez NITON XL3t 600 (ThermoFischer Scientific) hordozható röntgenfluoreszcenciás készüléket használtam. Miután a készülék automatikusan kalibrálja magát, mintákként 135 mp mérési idővel, 33 különböző elem mennyiségi analízisét végzi el.

2.7. Mortalitási teszt módszerek

D: A nagyobb testméretű teszt faj (*D. veneta*) esetén a módszer az OECD 207 szabványon alapul, de a mintamennyiséget 40 g/állat volumenre optimalizáltam. 10 cm átmérőjű, 500 ml térfogatú üveg teszt edényeket használtam. Ezekbe 120 g talajt mértem be, majd a víztartóképeség 60%-ra nedvesítettem. Erre helyeztem tesztállatokat. A kísérleteimben ismétlésenként 3-3 egyed teszteltem. Az edényeket fénytől védve, 20±2 °C-on tároltam. Az edényeket a 7. és a 14. napon ellenőriztem. Ekkor összeszámoltam az elpusztult állatokat. Továbbá az „elutasítást”, mint viselkedési anomáliát is feljegyeztem: ha az egyed a kontaktidő letelte után mechanikai ingerre még mozgott, tehát élt, azonban a talajfelszínen maradt.

E1: A közönséges televényféreg (*E. albidus*) teszt faj esetén minden edénybe 20 g talajmintát mértem be, amelyet az adott minta víztartóképeségének 60%-ra nedvesítettem. A vörösiszap letális hatásának felmérésekor 6 cm átmérőjű üvegedényeket használtam. A nedvesített talajra 5 állatot helyeztem. A teszteket az expozíciós idő alatt, sötétben 20±2 °C-n tároltam. Az OECD 207 szabvány szerint, 7 és 14 napos leolvasási időket alkalmaztam. A tesztben feljegyeztem mind az elpusztult, mind az elutasító viselkedési anomáliát mutató állatok számát.

E2: A második tesztben a kezeletlen vörösiszap vizsgált koncentrációt nem csak szilárd formában, hanem vizes szuszpenzió és talajkivonat (extraktum) formában is megvizsgáltam. Mindhárom talaj esetén, mindhárom forma hatását mértem. A

szilárd formájú mintákat is 9 cm átmérőjű üveg Petri-csészébe mértem be. Amorim és munkatársai (2005) munkája alapján, minden Petri-csészébe 25 g minta került. A minták nedvesítése ez esetben is a víztartó képesség 60%-ára történt. A talajszuszpenzió és talajkivonat minták vizsgálatakor az előző bekezdésben bemutatott méretű üveg Petri-csésze tesztedényt használtam, amelyeket laboratóriumi szűrőpapírral béleltem ki. A 3 ml mintát a szűrőpapírra juttattam. Minden Petri-csészében végzett tesztet állandó hőmérsékleten ($21\pm 1^\circ\text{C}$ -on), fénytől védve tároltam a 96 órás expozíciós idő alatt. A teszt végén megszámláltam az elpusztult állatokat.

2.8. Mozgás-frekvencia végpont mérés

A dolgozatban Kristan (2017) munkájában perisztaltikus-mozgásként definiáltak alapján becsültem meg a helyváltoztató viselkedést. A perisztaltikus mozgása során egyszerre 3-8 szelvény húzódik össze, amelyek egy átmeneti „lábát” alkotnak. Ez az összehúzódás elindul a test hátsó régiója felé. Közben az összehúzódás előtt lévő szegmensek megnyúlnak, felemelik az elülső szelvényeket a közegből és a felemelt részt előre tolják. Sok esetben egy egyedet egyszerre több ilyen kontraktilis rész is mozgat egyszerre. **F-G:** Egy mozgás egység az, amikor az összehúzódás (láb) végigfut a teljes testhosszon, minden szelvényen. A több megfigyelővel végzett kísérletekben a tesztet végző személyek saját magukhoz viszonyítva konzekvensen kezelték az egység fogalmát.

Mind a hígítatlan vörösiszapok-, mind a vörösiszap koncentrációk vizsgálatakor mindkét teszt faj esetén a mozgás-frekvencia mérést a mortalitási teszt részeként alkalmaztam. Mindkét fajnál a talajfelszínt elegyengettem. A végpont vizsgálata során egy darab állatot helyeztem a tesztedénybe, amelynek mozgását a rehabilitációs idő leteltével egymást követően 2×10 mp-ig mértük. Rehabilitációs időnek nevezem azt az 1-10 mp időtartamot, amely során az állat perisztaltikus-mozgása egységes ritmusúvá válik. Amennyiben ez nem történt meg az állatot kizártam a vizsgálatból és eltávolítottam.

2.9. Eredmények elemzése, statisztikai értékelése

A statisztikai próbák elvégzése előtt minden esetben külön ellenőriztem azok alkalmazhatósági feltételeit. A statisztikai értékelés során szignifikánsnak vettem minden olyan különbséget, ahol a $p < 0,05$. Mivel sok esetben az alkalmazott próbák a minták elemszámából fakadóan túlérzékenyek voltak, így az ANOVA modelleknél (GLM modell részeként is) az F-értékek, GLZ modellek esetén a Chi-négyzet próbastatisztikai értékei adnak becslést a változások nagyságára nézve.

2.9.1. A mozgás-frekvencia végpont vizsgálata

A módszer precizitásának minősítése Gage R&R vizsgálattal történt. Az előkísérleti szakaszra vonatkozóan az ANOVA vizsgálatba 2 faktor került: a koncentráció és a tesztedény. A fő kísérlet szakasz első tesztjéből a reprodukálhatóságot értékeltem. Ez esetben 3 faktor hatását vizsgáltam ANOVA-

val: a koncentrációt, az edényt és a megfigyelő személyét. Az ismételhetséget a 2 db 3 megfigyelővel végzett teszt összehasonlításával vizsgáltam. Ebbe amodellbe egy újabb faktor is beépítésre került: a mérési nap. A 2 mérés precizitásának számszerűsítéshez szórásszázalékot is kalkuláltam.

A tesztek alkalmazhatóságának (pontosság) értékelése több megközelítéssel történt. A tesztek során a gátlási-százalék mintájára stimulációs-százalékot számoltam:

$$\text{Stimulációs\%} = \frac{\text{Átlagos mozgás (adott koncentráció szinten)}}{\text{Átlagos mozgás (kontroll)}} * -100$$

Az elemzés során a koncentrációk esetén kalkulált stimulációs%-t, mint normális eloszlású adatokat többfaktoros ANOVA segítségével értékeltem, ahol a mérési nap, a megfigyelő és a koncentráció szerepelt faktorként. Az adattábla felépítése miatt az ANOVA próba (Tukey-próbával) csak GLM modell részeként volt elvégezhető. Hogy még jobban megközelítsem az általam ismert gyakorlatot az adatok leválogatásával (külön kezelve az egyes mérési napokon a különböző megfigyelők által mért adatokat) körtesztet imitáltam. Ennek elemzésekor LOEC-t és szignifikáns koncentrációkat vizsgáltam. A körteszt megközelítés esetén külön elemeztem az adattáblákat. Az ANOVA csoportok összehasonlításához azonosság[$\%$] számoltam. Ez az érték azt mutatta meg, hogy egy koncentrációban hány esetben detektáltak statisztikailag azonos változásokat.

2.9.2. Fizikai és kémiai mérések értékelése

A: Hígítatlan vörösiszap minták kémhatásának összevetésére 2 mintás t-próbát használtam. A talajminták kémhatásának besorolásakor az USDA (Amerikai Mezőgazdasági Hivatal) kategóriákat alkalmaztam.

B: A hígítatlan minták esetén a víztartó képességet kétmintás t-próbával hasonlítottam össze. A víztatóképesség mérés esetén a mért értékek elemzéséhez többfaktoros ANOVA próbát használtam, hogy megállapítsam milyen faktorok befolyásolják a víztartóképpességet. A NH-K (0%) volt a referencia szint.

2.9.3. A mortalitási tesztek értékelése

D-E1: Mindkét teszt faj esetén a hígítatlan vörösiszap minták vizsgálatához 2×2 frekvencia táblát alkalmaztam. A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk) vizsgálatakor, a mortalitást, mint függő változót, az adatok normalizálása után több faktoros ANOVA próba alkalmazásával vizsgáltam. A normalizálás arkusz-színusz transzformációval történt.

E2: A vörösiszap formáinak (szilárd, extraktum vagy szuszpenzió) letális hatását vizsgáló teszt értékeléséhez, amelyet az *E. albidus* tesztfajjal végeztem el, többfaktoros ANOVA-t alkalmaztam, az arkusz-színusz transzformációval normalizált adatokra.. Az átlag értékek összehasonlítására Fischer LSD próbát használtam.

2.9.4. A vörösiszap koncentrációkkal végzett mozgás-frekvencia tesztek értéklése

A mozgás-frekvencia végpont esetén a két tesztfajjal végzett ökotoxikológiai tesztek értékelése egyforma módszerrel történt.

F-G: Mind a hígítatlan minták, mind a koncentrációk hatásának vizsgálata esetén a mozgás-frekvenciát Poisson-eloszlású adatként kezeltem. Az elemzéshez Poisson-regressziót (GLZ modellt) alkalmaztam. A koncentráció folytonos kovariáns volt. Mind a hígítatlan vörösiszap minták, mind a koncentrációk elemzésénél az adott mérés során a kezeletlen vályogtalaj (NH-K) esetén mért átlagos érték volt a referencia szint. Az adatok jobb összehasonlíthatósága végett mind a hígítatlan vörösiszap, mind a koncentrációk hatásainak vizsgálatakor számoltam stimulációs %-ot is.

3. Eredmények és értékelésük

3.1. Mozgásfrekvencia végpont

A mozgás-frekvencia végpont Gage R&R módszerrel történő vizsgálatánál azt találtam, hogy a két mérési idő között a pontosságban nincs számottevő különbség (1. táblázat). A megfigyelő, a tesztedény nem, azonban a mérési nap (tehát az eltérő alapsokaság) mindkét esetben jelentős többletingadozást okozott.

1. táblázat: Varianciakomponensek a 10 és 20 mp mérési idők esetén

10 másodperc alatt mért értékek alapján		20 másodperc alatt mért értékek alapján	
Faktorok	Varianciakomp.s	Faktorok	Varianciakomp.
Edény	0,004	Edény	0,009
Megfigyelő	0	Megfigyelő	0,001
Mérési nap	0,088	Mérési nap	0,177
Megfigy. × Konc.	0,001	Megfigy. × Konc.	0,002
M. nap × Konc.	0,005	M. nap × Konc.	0,010
Megfigy. × Edény	0	Megfigy. × Edény	0
Megfigy. × M. nap	0,000	Megfigy. × M. nap	0,000
Hiba	0,024	Hiba	0,028

A szórás% mindkét mérési idő minden mért koncentrációja esetén 10-16% között alakult. Ez alapján a mérés elfogadhatóan pontosan reprodukálható, azonban a mérési nap hatása meghatározó volt.

A 10 másodperces mérési idő esetén az ökotoxikológiai következtetések nagyobb arányban voltak azonosak a megfigyelők között. Ökotoxikológiai szempontból a mérés átlagosan 85%-os pontossággal reprodukálható (Azonosság[%] a 10 mp mérési idő esetén: LOEC 83; kontrolltól való szignifikancia az egyes koncentrációkban 92; koncentrációk azonos mértékű hatása: 79).

Habár a 10 mp mérési idővel ökotoxikológiai szempontból is megfelelő módon értékelhető volt a mérés eredménye, a mérési nap vonatkozásában az eltérések adódtak. A módszer jövőbeli alkalmazásakor ezt fontos figyelembe venni és a mozgás-frekvencia teszt eredményeit vagy becslésként (pre-screening eredményként) kell adaptálni, vagy más módszerek eredményeivel együttesen kell értékelni.

3.2. A hígítatlan vörösiszap minták

A vörösiszap kezelése szignifikáns mértékben csökkentette az anyag kémhatását (T:10,4±0,1; G:9,4±0,0) és a víztartóképességét ([%]: T:51,8±3,4; G:33,4±1,0). A szennyvíziszapokra vonatkozó 50/2001 (IV.3.) Kormányrendelet határértékei alapján az arzén, a kobalt, a króm, a higany és a nikkelt jelen a megengedettnél nagyobb mennyiségben. Valamint mindkét típusú vörösiszapnak magas volt a vanádium tartalma.

Mindkét teszt faj esetén szignifikáns mértékű letális hatást detektáltam. A *Denrobaena veneta* (átlagos túlélés[%]:G:22,2±38,5; T:55,6±50,9) egyedek toleranciája eltérő volt. A közönséges televényféreg (*E. albidus*) a kezeletlen vörösiszapra igen érzékeny volt. (átlagos túlélés[%]: G:93,4±11,5; T:0,0±0,0).

A hígítatlan vörösiszapok szubletális módon is képesek voltak befolyásolni az állatok viselkedését. Mindkét teszt faj esetén a kezeletlen vörösiszap nagyobb mértékű választ váltott ki, mint a kezelt (Stimuláció[%]: *D. veneta*: G:58,3±7,0; T:70,8 ± 7,9; *E. albidus*: G:137,4±0,0; T:141,6±19,7). Mindkét teszt faj 100%-ban elutasította az hígítatlan mintákat.

Az eredmények alapján nyilvánvalóvá válik az a szakirodalomban is ismeretett tény (Evans, 2016), hogy a vörösiszap kezelése megváltoztatja annak tulajdonságait, mind fizikiai-kémiai, mind ökotoxikológiai szempontból.

3.3. A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk)

2. táblázat - Ökotoxikológiai szempontból elfogadható mért koncentrációk

Elfogadható	NH		NY		OB	
	T	G	T	G	T	G
pH max 7,8	K	K	5	10	K	1
Elemtartalom <határérték	K	K	5	10	5	5
<i>D. veneta</i> mortalitás max 20%	>50	>50	>50	>50	>50	>50
<i>E. albidus</i> mortalitás max 20%	10	50	25	50	10	50
<i>D. veneta</i> mozgás-frekvencias max 25% serkentés	5	5	<5	5	10	5
<i>E. albidus</i> mozgás-frekvencias max 25% serkentés	<5	<5	<5	50	<5	50
Legnagyobb elfogadható vizsgált koncentráció	K	K	5/<5	5	K	1

A vörösiszap hozzáadás szignifikáns mértékben és koncentráció arányosan emelte a talajok kémhatását. Az egyes talaj és vörösiszap típusok ezt befolyásolni tudták. A víztartó képességre a vörösiszap hozzáadás szignifikáns mértékben hat. A vörösiszap és a talaj tulajdonságai ez esetben is befolyásolták a hatás mértékét.

A 6/1999 Kormányrendelet (As, Cr) illetve Swarties (1999) (Va) adatai alapján a nagyhorcsöki talaj esetén már a legkisebb koncentráció is határértéket meghaladóan növelte a elemtartalmat. Az örbottyáni mintaterületnél maximum 5%-os koncentráció, a nyírlugosi mintaterületnél a vörösiszap típusától függően maximum 10%-os koncentráció volt elfogadható (2. táblázat).

A nagyobb testű teszt faj (*D. veneta*) mindkét vörösiszap minden vizsgált koncentrációját túlélte. A kezeletlen vörösiszap esetén NY-10% és a gisszel kezelt vörösiszap esetén a NH-50%-s koncentrációjában pusztult el egy-egy egyed. Az egyedek nem kedvelték a magasabb koncentrációkat. Mindhárom vizsgált talaj esetén az állatok teljes mértékben (100%) elutasították a nagy koncentrációkat (G≥25%; T≥10%). A közönséges televényféreg (*E. albidus*) jóval érzékenyebb volt vörösiszagra. Szilárd forma esetén már 10%-os koncentráció is képes volt szignifikáns mértékű mortalitást okozni. A szuszpenziók és az extraktumok nem voltak képesek ilyen módon hatni.

A vörösiszap talajba keverése szubletális módon is hatott az állatokra (3. táblázat).

3. táblázat: Átlagos stimuláció [%] (\pm szórás) az adott kontroll talajban mért értékhez viszonyítva

	NH		NY		OB	
	G	T	G	T	G	T
<i>Dendrobaena veneta</i>						
5%	12,5 \pm 2,4	25,0 \pm 2,5	19,1 \pm 2,6	171,4 \pm 34,3	11,1 \pm 1,1	20,0 \pm 4,0
10%	35,4 \pm 0,9	29,2 \pm 1,6	38,1 \pm 2,3	182,1 \pm 20,3	40,7 \pm 1,9	16,0 \pm 2,7
25%	33,3 \pm 1,8	91,7 \pm 3,5	66,7 \pm 8,7	235,7 \pm 19,6	70,4 \pm 9,6	24,0 \pm 2,6
50%	45,8 \pm 2,3	95,8 \pm 7,1	85,7 \pm 6,6	246,4 \pm 11,5	118,5 \pm 7,0	28,0 \pm 2,5
<i>Enchytraeus albidus</i>						
5%	147,4 \pm 11,1	36,3 \pm 2,1	125,9 \pm 33,6	4,7 \pm 0,2	149,1 \pm 22,7	8,5 \pm 2,0
10%	2,7 \pm 4,7	55,1 \pm 2,3	78,9 \pm 5,6	7,6 \pm 0,3	89,5 \pm 10,5	12,2 \pm 0,8
25%	12,2 \pm 2,3	69,9 \pm 2,7	100,0 \pm 8,4	16,7 \pm 0,8	130,7 \pm 15,4	20,5 \pm 0,9
50%	73,0 \pm 9,4	83,0 \pm 4,5	128,5 \pm 5,1	21,8 \pm 1,3	103,5 \pm 42,5	24,1 \pm 1,2

A 3. táblázatban közölt adatok megerősítik azt a trendet, hogy habár a koncentráció növelésével a legtöbb esetben növekedett mindkét vizsgált faj mozgásának intenzitása, a növekedés mértékét befolyásolta mind a vörösiszap-, és a talaj típusa.

A bemutatott eredmények alapján a két vörösiszap közül a kezelt talajba kevert koncentrációi voltak kevésbé toxikusak. Mindkét vörösiszap alacsony koncentrációi savanyú talajba (NY) keverve kifejezett talajjavító hatásúnak bizonyultak. A vizsgált koncentrációknak (0–50%) nem volt szignifikáns letális hatása a nagyobb testméretű (*D. veneta*) tesztfajra, amely eredmény összhangban van Maddock és munkatársai (2005) eredményeivel, de ellentmond más szakirodalomban közölt eredményeknek (Sanderson és mtsai. 2014; Hackenberger és mtsai. 2019, Courtney és mtsai. 2020; Di Carlo és mtsai. 2020). Véleményem szerint ennek legfőbb oka, hogy az egyes vörösiszapok eltérő tulajdonságokkal rendelkeznek.

A közönséges televényféreg fajra (*E. albidus*) vonatkozó irodalmi adatok alapján nem tudjuk minősíteni az egyedeket ért komplex koktélnyújtást, mivel erről még nem publikáltak, így nem kizárható, hogy ez okozta a toxicitást. Gyűrűsféreg fajok esetén a közeg kémhatása befolyásolni tudja a fajok túlélését és szaporodását (Peijnenburg és mtsai. 2012). A vörösiszap pH növelő hatása előnyös lehet a savanyú talajok esetén, hiszen a közönséges televényféreg (*E. albidus*) pH optimuma 6,8-7,0 közötti (toleranciatartománya: 4,8-7,4) (Chapman és mtsai. 2013).

A nagyobb testméretű faj (*D. veneta*) az enyhén lúgos kémhatást és a magas víztartalmat (67,4 84,3%) preferálja (Smith és Stringfellow, 2010). Habár a faj pH tolerancia tartományára nem találtam irodalmi adatokat, abból kiindulva, hogy a földigiliszta fajok jellemzően széles tűrésűek (pH:5-9) (Edwards és Arancon, 2005), valószínű hogy a koncentrációk ezért sem tudtak szignifikáns mértékű mortalitással hatni az egyedekre.

A két vizsgált faj esetén a letális és szubletális hatások összegzése alapján jellemzően 5% vörösiszap mennyiségnek még nincs jelentős ökotoxikológiai kockázata, bár a perisztaltikus mozgás-frekvenciára, mint legérzékenyebb vizsgált

(viselkedésbeli) végpontra már mérhető módon hatott. Ez az eredmény összhangban van Finngan és munkatársai (2018) eredményeivel. A mortalitási, a mozgás-frekvencia eredményeit együtt értékelve megerősíthetjük azt a szakirodalomban leírt megfigyelést, hogy a talaj tulajdonságai (pl.: uralkodó szemcseméret, valódi talajnedvesség) befolyásolni tudják a gyűrűsféreg viselkedését (Ruiz és Or, 2018). A fent bemutatott eredmények megerősítik azt a szakirodalomban közölt eredményt, hogy savanyú homoktalajok esetén maximum 5%-os koncentrációban alkalmazott vörösiszap anélkül használható talajjavító anyagként, hogy jelentős ökotoxikológiai kockázata lenne (Ujaczki és mtsai. 2016).

Ezt az eredményt egy doktori munkámnak részét nem képező mikrokozmosz kísérletben akut környezettoxikológiai tesztekkel (*Sinapis alba*, *Triticum aestivum*, *Tetrahymena pyriformis*, *Dendrobaena veneta*, *Folsomia candida*) is sikerült már megerősíteni (kezeletlen vörösiszap 1-10%-os koncentrációkban, savanyú homok (nyírlugosi) és karbonátos homoktalajhoz keverve) (Feigl és mtsai. 2017; Kerekes és mtsai. 2017a; Kerekes és mtsai. 2017b).

Az előzőekben bemutatott eredmények alapján, maximum 5% vörösiszap képes lehet javítani a savanyú homoktalajok gyűrűsféreg számára meghatározó tulajdonságain, így jobb élőhelyet biztosítva az állatoknak.

4. Javaslatok és következtetések

A bemutatott módszer-optimalizálási kísérletek sikerrel zárultak, azonban ahhoz, hogy kimondhassuk, hogy a mozgás-frekvencia vizsgálat valóban széleskörűen és megbízhatóan alkalmazható, szükségesnek tartom további ismert szennyező csoportokkal (szerves vegyületek, vízben oldhatatlan anyagok, nanoanyagok, mikroműanyagok) is megismételni a tesztek.

Ezen felül valódi körtesztek elvégzését is szükségesnek vélem. Amennyiben azt kívánjuk kimondani, hogy a tesztek általában minden gyűrűsféreg fajjal megismételhető, úgy elengedhetetlen más ismert laboratóriumi tesztfajokkal (*Enchytraeus crypticus*, *Lumbricus terrestris*, *Eisenia fetida*) megismételni azokat.

A körtesztek elvégzése mellett a vizsgálati nap (alapsokaság állapota) hatását jobban fel kell deríteni. Ebből a célból további arra vonatkozó vizsgálatok elvégzésére van szükség, amellyel az alapsokaság (mérési nap) ingadozásnövelő hatását lehet vizsgálni. Ugyan a mozgás-frekvencia vizsgálat speciális felszerelési igénnyel nehezebben alkalmazhatóvá válik a kisebb anyagi forrásokkal rendelkező laborok számára, a jövőben a módszerhez célzott technológia (felvevő egység és kiértékelő szoftver) fejlesztését hasznosnak vélem. Ezzel el lehetne kerülni a megfigyelő személyéből származó többletingadozást és korlátolt ismételhetőséget.

A vörösiszap talajjavításra való használata esetén még számos kérdést szükséges megválaszolni: Fontos lenne például tisztázni, hogy a vörösiszap pH növelő hatása a talajokban milyen hosszú távon és meddig érvényesül. Ennek vizsgálatára hosszú távú (több éves) szabadföldi kísérleteket javaslok. A hosszútávú vizsgálat részeként szükségesnek tartom felderíteni azt a potenciális veszélyt, hogy amennyiben a kémhatás újra savasodni kezd, vajon a talajhoz adott vörösiszap (pl. a fémtartalom miatt) toxikussá válik-e?

A kockázat megértéséhez kiemelt jelentőségűnek tartom a fémek kémiai formáját valamint komplexének együttes hatását felderíteni a vizsgált tesztfajok esetén. Fel kell deríteni ennek mely része van felvehető formában. Kívánatosnak tartom körüljárni azt a kérdést, hogy a hígítatlan vörösiszap minták nagyobb testmretű (*D. veneta*) tesztfajjal történő tesztelésekor, a mortalitási tesztben tapasztalható nagy szórásnak mi az oka.

A három megvizsgált forma esetén csak a szilárd porított formájú vörösiszap koncentrációknak volt szignifikáns mértékű letális hatása. Azt gondolom azért, mert a vörösiszap lúgos kémhatását többek között a benne található nagy mennyiségű nátrium-hidroxid (NaOH) molekula adja.

A nátrium-hidroxid olyan abszorbens anyag, amely nagy mennyiségű vizet képes megkötni. Véleményem szerint, a szárított formák esetén a megnövekedett toxicitást nem önmagában a pH növekedés okozta, hanem az is, hogy a nátrium-hidroxid kivonhatta az állatok kutikulájából a vizet. Ennek a jelenségnek az igazolása további szövettani vizsgálatok elvégzését teszi szükségessé.

Annak ellenére, hogy az extraktum és szuszpenzió szabvány szerinti hígításainak nem volt szignifikáns mértékű toxikus hatása a televényférgekre (*E. albidus*), szükségesnek tartom töményebb koncentrációk, illetve más oldószerekkel történő

feltárás (pl.: enyhe szerves savakkal) után is megvizsgálni a kérdést, hogy jobban tudjuk modellezni a későbbi alkalmazásban a beavatkozási területek talajvizeinek potenciális toxikus hatását.

Fontos lenne kideríteni, hogy a két vizsgált teszt faj (*E. albidus* és *D. veneta*) vörösiszap és fémtoleranciája jól modellezi-e a családok érzékenységét (Enchytraeidae és Lumbricidae).

Ahogy az a mért adatokból és a szakirodalmi áttekintésből is látszik a különböző állatcsoportok és a csoportokon belül a különböző taxonok igen eltérő érzékenységgel rendelkeznek. A vörösiszap talajjavító anyagként való használata előtt fontos, hogy további talajlakó, jellemzően érzékeny teszt fajok (pl. K-stratégista fonálférgék, ugróvillások, egyes csiga és pókfajok) toleranciáját felmérjük. A gyakorlati alkalmazás megkezdése előtt, viszont a rövidtávú hatások mellett elengedhetetlennek tartom a különböző gyűrűsféreg populációkra gyakorolt potenciális krónikus és hosszú távú ökotoxikológiai hatásokat modellezni.

A szabvány OECD 220 és 222 szabványosított szaporodásgátlási tesztek elvégzése mellett, az elkerülési viselkedés és a traszgenerációs hatások (növekedés során történő változások/deformitások; enzim vizsgálatok) felderítését is javaslom. Véleményem szerint elkerülési vagy talajválasztási tesztekkel megvizsgálható lenne az, hogy az állatok számára a pontosan milyen mennyiségű vörösiszappal javított talaj bír az eredeti talajokhoz képest talajjavító tulajdonságokkal.

Az adott talajökoszisztémában jelenlévő fajok is eltérő érzékenységűek lehetnek. Emiatt minden alkalmazás előtt elengedhetetlennek vélem egy a terület sajátosságai alapján kiegészített, illetve optimalizált átfogó környezetvédelmi kockázatbecslés készítését.

Amennyiben a gyakorlati alkalmazáskor a vörösiszapot biztonságosan szeretnénk használni, kiemelt jelentőségűnek tartom felderíteni azt, hogy a vörösiszapos talajjavítás befolyásolja-e a különböző agrokemikáliák hatását: Interakcióba lépve azokkal, a lehetséges toxikus hatások között felmerülhet-e a szinergizmus vagy potenciáció jelensége.

5.Új tudományos eredmények (tézisek) bemutatása

I.1. A hagyományos mortalitási vagy szaporodásgátlási tesztek során olyan szubletális végpont kifejlesztése volt a cél, amely információt ad az állatok mozgási viselkedésének megváltozásáról, illetve megvizsgálni, hogy a végpont mérése kellő precizitással ismételtető-e. Emellett tesztekkel akartam igazolni, hogy a végpont mérésére kitalált módszer kellő megbízhatósággal alkalmazható-e.

A jelenleg rendelkezésre álló eredményeim alapján a mozgás-frekvencia teszt a mortalitási tesztek (OECD 207 és 220) részeként megfelelő precizitással és pontossággal elvégezhető (ismételhető és reprodukálható). A 10 másodperces mérési idő használatával felhasználható arra, hogy kiegészítő, előzetes eredményeket adjon egy szabványosított teszt eredményei mellé. A tesztben a megfigyelő személye ugyan befolyásolt, de a mérésből levonható szakmai következtetések az adott napi kontrollhoz viszonyítva csak elfogadható mértékben (átlagosan <20%) torzultak.

A szabványban alkalmazott módszerrel szemben a mozgás-frekvencia megfigyelése szinte azonnal pre-screening eredményeket nyújt. Az alkalmazhatóság szempontjából fontos megjegyezni, hogy a különböző időpontban létrehozott szinkron tenyészetek egyedi érzékenysége egymáshoz képest szignifikáns mértékben eltérő lehet és a mérő személye befolyásolhatja az eredményeket, így a különböző teszteredmények összehasonlításához elengedhetetlen az egységes kontroll megválasztás. A jelenlegi eredmények alapján televényféreg (*E. albidus*) és földigliszta (*D. veneta*) tesztfajokkal is sikeresen elvégezhető a teszt módszer.

Kerekes, I. K., Pusztai, É., Feigl, V., Kemény, S. (2022): Acute ecotoxicological effects of bauxite residue addition on mortality and motion-frequency of *Denrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus* (Annelida) in three types of soils. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, <https://doi.org/10.3311/PPch.19868>

Pusztai, É., Kerekes, I., Hegyi, Z., Kemény S. (2021): Gage R&R study a környezettoxicológiai vizsgálatokban (előadás). KeMoMo–QSAR 2021 szimpózium, 2021 szeptember 30-október 1. Szeged.

II.1. Meg kívántam vizsgálni azt, hogy a vörösiszap talajba történő adagolásával azok fizikai és kémiai tulajdonságai (kémhatás, víztartóképeség, fém tartalom) hogyan változnak meg.

Annak ellenére, hogy a vörösiszap irodalmi adatok alapján alkalmas anyag a homoktalajok talajjavítása, a doktori disszertációmban és más, lektorált tudományos munkáimban közölt eredmények, valamint közreműködésemmel készül egyéb tudományos munkák (Feigl és mtsai. 2017, Kerekes és mtsai. 2017a) alapján talajjavításra történő biztonságos alkalmazhatósága a vizsgált talaj tulajdonságaitól (pH, elemtartalom) és vörösiszap tulajdonságaitól (pH, elemtartalom) függött. Bebizonyítottam, hogy a vörösiszap hozzáadás nem minden homoktalaj esetén talajjavító hatású.

Fémekkel terhelt vályog (nagyhőrcsöki) talaj esetén nem volt javasolt az alkalmazása. Lúgos talajok esetén (nagyhőrcsöki és őrbottyáni) a potenciális előnyök mellett (pl. víztartóképeség növelés, mikrotápanyag-pótlás) fontos figyelembe venni a kémhatás növeléséből származó kockázatot. Savanyú homoktalaj

(nyírlugosi) esetén az anyag viszonylag kis koncentrációban (max. 5%) jól alkalmazható. A vizsgált savanyú talajban, a kis koncentráció a szélsőséges pH-t emelte, a víztartó képességet növelte.

Kerekes, I., Molnár, M., Feigl, V. (2017): Vörösiszappal kezelt homoktalajok ökotoxikológiai vizsgálata (előadás). 60. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés és XIII. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia, 2017 augusztus 23-25., Debrecen.

Kerekes, I. K., Feigl, V. (2018): Effects of bauxite residue on the avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae). *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* 62(4):415-425.

Kerekes, I. K., Majnovics, Á., Hegyi, D., Molnár, M., Feigl, V. (2018): Vörösiszap ökotoxikológiai hatása homoktalajokban közepes távú mikrokozmosz kísérletben (poszter). VIII. Ökotoxikológiai Konferencia, 2018 november 23, Budapest.

Kerekes, I. K., Pusztai, É., Feigl, V., Kemény, S. (2022): Acute ecotoxicological effects of bauxite residue addition on mortality and motion-frequency of *Denrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus* (Annelida) in three types of soils. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, <https://doi.org/10.3311/PPch.19868>
II.2. Szándékomban állt, a vörösiszap akut letális és szubletális hatásainak felmérése televényféreg (E. albidus) és földigiliszta féle (D. veneta) tesztfajok alkalmazásával.

A hatás függött a vörösiszap kezelésétől. Még az érzékenyebb tesztfaj, a közönséges televényféreg (*E. albidus*) esetén is, csak a porított formának volt toxikus hatása. Szuszpenzióként vagy extraktumként még a nagy koncentrációk sem okoztak kimutatható toxicitást.

A nagyobb testméretű földigiliszta fajra (*D. veneta*) csak a tömény vörösiszap minták voltak toxikusak. A gipsszel kezelt vörösiszapnak a vizsgált koncentrációkban nem volt letális hatása. A közönséges televényféreg (*E. albidus*) tesztfaj esetén a kezeletlen vörösiszapnak a hatása statisztikailag kimutatható mértékben függött a koncentrációtól. A hatás az általam vizsgált három talajban nem egyformán érvényesült, a legerősebben a karbonátos homoktalajban (OB) tudott hatni.

Kerekes, I. K., Feigl, V. (2018): Effects of bauxite residue on the avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae). *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* 62(4): 415-425.

Kerekes, I. K., Majnovics, Á., Hegyi, D., Molnár, M., Feigl, V. (2018): Vörösiszap ökotoxikológiai hatása homoktalajokban közepes távú mikrokozmosz kísérletben (poszter). VIII. Ökotoxikológiai Konferencia, 2018 november 23, Budapest.

Kerekes, I. K., Pusztai, É., Feigl, V., Kemény, S. (2022): Acute ecotoxicological effects of bauxite residue addition on mortality and motion-frequency of *Denrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus* (Annelida) in three types of soils. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, <https://doi.org/10.3311/PPch.19868>

Tudományos munkák jegyzéke

- 2017 XIII. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia (előadás) Kerekes I., Molnár M., Feigl V.: *Vörösiszappal kezelt homoktalajok ökotoxikológiai vizsgálata*
- 2017 VII. Ökotoxikológiai Konferencia (poszter) Kerekes I., Majnovics Á., Hegyi D., Molnár M., Feigl V.: *A vörösiszap ökotoxikológiai hatása homoktalajokban közepes távú mikrokozmosz -kísérletben*
- 2017 Feigl, V., **Kerekes, I.**, Farkas, É., Molnár, M.: *The effect of red mud on the soil biotas in sandy soil – a microcosm experiment* in: Marilena Buburuzan; Teodosiu, Fava, Gavrilesco, Bertin (szerk.) 9th International Conference on Environmental Engineering and Management (ICEEM09): Circular Economy and Environmental Sustainability: Conference Abstracts Book (2017) pp. 283-284., 2 p.
- 2018 XIV. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia (előadás) Kerekes I., Molnár M., Feigl V.: *Közönséges televényféreg (Enchytraeus albidus) elkerülési tesztek alkalmazása talajjavító adalékok és szennyezőanyagok minősítésére*
- 2018 PhD hallgatók 3. Környezettudományi konferenciája (poszter-előadás) Kerekes I., Feigl V., Molnár M.: *Ökotoxikológiai tesztek közönséges televényféreggel vörösiszap, mint talajjavító adalék hatásának felmérésére – 3. helyezés*
- 2019 Tavaszi Szél Konferencia (előadás) Kerekes I., Feigl V., Farkas É., Molnár M.: *Ökotoxikológiai tesztek közönséges televényféreggel bioszén, mint talajjavító adalék hatásának felmérésére*
- 2019 Farkas É., **Kerekes I.**, Tolner, M., Szabó, Á., Vaszita E., Molnár M.: *Biochar mediated short-term effects on acidic sandy soil and influence on soil living animal Enchytraeus albidus – preference behavioral test as a screening tool to assess soil habitat function* (poszter). 19th International Symposium on Toxicity Assessment. http://ista19.civil.auth.gr/wp-content/uploads/2019/08/Abstracts_ISTA-2019.pdf
- 2021 Pusztai É., **Kerekes I.**, Hegyi Z., Kemény S.: *Gage R&R study a környezettöxicológiai vizsgálatokban* (előadás). KeMoMo-QSAR 2021 szimpózium <http://www.chemicro.hu/QSAR/kivonatok26/kivonat2604.html>
- 2015 Szakályas J., Kröel-Dulay Gy., Kerekes, I., Seres, A., Ónodi, G., Nagy P.: *Extrém szárazság és növényzeti borítottság hatása szabadon élő fonálféreg együttesekdenzitására - Természetvédelmi Közlemények (21)*
- 2018 Kerekes, I., Feigl, V.: *The effect of bauxite residue on the avoidance behavior of Enchytraeus albidus (Enchytraeidae)- Periodica Polytechnica Chemical Engineering, 62(4): 415–425.*
- 2020 Farkas É., Feigl V., Gruiz K., Vaszita M., Fekete-Kertész I., Tolner M., Kerekes I., Pusztai É., Kari A., Uzinger N., Rékási M., Kirchkeszner Cs., Molnár M.: *Longterm effects of grain husk and paper fibre sludge biochar on acidic and calcareous sandy soils - A scale-up field experiment applying a complex monitoring toolkit- Science of the Total Environment. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138988. Epub 2020*
- 2022 Kerekes I., Pusztai É., Feigl V., Kemény S.: *Acute ecotoxicological effects of bauxite residue addition on mortality and motion-frequency of Dendrobaena veneta and Enchytraeus albidus (Annelida) in Three types of soils- Periodica Polytechnica Chemical Engineering, 2022. <https://doi.org/10.3311/PPch.19868>*

FORRÁSOK

1. Amorim, M.J.D.B.; Römbke, J.; Schallnaß, H-J.; Soarest, A.M.V.M. (2005): Effect of soil properties and aging on the toxicity of copper for *Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus luxuriosus* and *Folsomia candida*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24(8):1875-1885. DOI: 10.1897/04-505r.1
2. Chapman, E. V., Dave, G., Murimboh, J. D. (2013): A review of metal (Pb and Zn) sensitive and pH tolerant bioassay organisms for risk screening of metal-contaminated acidic soils. *Environmental Pollution* 179:326-342. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.04.027>
3. Courtney, R., Di Carlo, E., Schmidt O. (2020): Soil properties and earthworm populations associated with bauxite residue rehabilitation strategies. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 33401-33409 DOI:10.1007/s11356-018-3973-z
4. Di Carlo, E., Boulemant, A., Poynton, H., Courtney, R. (2020): Exposure of earthworm (*Eisenia fetida*) to bauxite residue: Implications for future rehabilitation programmes. *Science of the Total Environment* 716: 137126 (online) <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137126>
5. Edwards, C.A.; Arancon, N.Q. (2005): The science of vermiculture: The use of earthworms in organic waste management. *Vermi Technologies for Developing Countries. Proceedings of the International Symposium-Workshop on Vermi Technologies for Developing Countries. Los Banos (USA).* <https://urbanwormcompany.com/wp-content/uploads/2014/09/THE-SCIENCE-OF-VERMICULTURE-Edwards-Arancon.pdf> 2022. január 4.
6. Evans, K. (2016): The history, challenges and new developments in the management and use of bauxite residue. *Journal of Sustainable Metallurgy (Online)* DOI 10.1007/s40831-016-0060-x
7. Feigl, V.; Kerekes, I.; Farkas, É.; Molnár, M. (2017): The effect of red mud on the soil biota in sandy soils- microcosm experiment. *Proceedings of the 9th International Conference Environmental Engineering and Management: Circular Economy and Environmental Sustainability. Bologna (Italy)*
8. Fergusson, L. (2014): A sustainability framework for the beneficial reuse of alumina refinery residue. *Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology* 1(5): 105-120. <http://www.jmest.org/vol-1-issue-5-december-2014/>
9. Finngan, G., O'Grady, A., Courtney, R. (2018): Plant assays and avoidance test with collembola and earthworms demonstrate rehabilitation success in bauxite residue. *Environmental Science and Research* 25(3): 2157-2166. DOI: 10.1007/s11356-017-0632-8
10. Hackenberger, D., Feigl, V., Lončarić, Ž., Hackenberger, B. K. (2019): Biochemical and reproductive effects of red mud to earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 168:279-286. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.10.097
11. Kerekes, I., Majnovics, Á., Hegyi, D., Molnár, M., Feigl, V. (2017a): A vörösiszap ökotoxikológiai hatása homoktalajokban közepes távú mikrokozmosz-kísérletben (22-23 pp). VII. Ökotoxikológiai Konferencia előadás és poszterkötete. Budapest (Hungary). ISBN: 9789638945280
12. Kerekes, I., Molnár, M., Feigl, V. (2017b): Vörösiszappal kezelt homoktalajok ökotoxikológiai vizsgálata. 60. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés és XIII. Környezetvédelmi Analitikai És Technológiai Konferencia, Debrecen
13. Kristan, W. (2017): Control of Locomotion in Annelids in Byrne, J. H. (szerk): *The Oxford Handbook of Invertebrate Neurobiology*. DOI: 10.1093/oxfordhb/9780190456757.001.0001
14. Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Bolan, N.S., Xu, Y., Mandal, S., Gleeson, D.B., Seshadri, B., Zaman, M., Barton, L., Tang, C., Luo, J., Dalal, R., Ding, W., Kirkham, M.B., Naidu, R. (2016) Chapter One - Functional relationships of soil acidification, liming, and greenhouse gas flux. *Advances in Agronomy* 139:1-71. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2016.05.001>

15. Maddock, G., Reicelt-Brusshett, A., McConchie, D., Vangronsveld, J. (2005): Bioaccumulation of metals in *Eisenia fetida* after exposure to metal-loaded Bauxol TM reagent. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24(3):554-563. DOI: 10.1897/04-087r.1
 16. MSZ 21470-2:1981 Környezetvédelmi talajvizsgálatok. Talajminta előkészítése, nedvességtartalom, elektromos vezetés és pH meghatározása, magyar Szabványügyi testület, 1982-2021
 17. MSZ 21978-9:1998 Veszélyes hulladékok vizsgálata. Hulladékkivonatok készítése fizikai, kémiai és ökotoxikológiai vizsgálatokhoz, Magyar Szabványügyi testület 1998-2006
 18. OECD 207: OECD (1984) Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-207-earthworm-acute-toxicity-tests_9789264070042-en
 19. OECD 220: OECD (2004) Test No. 220: Enchytraeid Reproduction Test https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-220-enchytraeid-reproduction-test_9789264070301-en
 20. Peijnenburg, W., Carpi, E., Kula, C., Liess, M., Luttk, R., Montforts, M., Nienstedt, K., Römbke, J., Sousa, J.P., Jensen, J. (2012): Evaluation of exposure metrics for effect assessment of soil invertebrates. *Critical Review in Environmental Science and Technology* 42(17): 1862-1893. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.574100>
 21. Power, G., Gräfe, M., Klauber, C. (2011): Bauxite residue issues: I. Current management, disposal and storage practices. *Hydrometallurgy* 108:33-45. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.02.006>
 22. Ruiz, S. A., Or, D. (2018): Biomechanical limits to soil penetration by earthworms: direct measurement of hydrockeletal pressures and peristaltic motions. *Journal of the Royal Society Interface* 15: 20180127. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2018.0127>
 23. Sanderson, P., Naidu, R., Bolan, N. (2014): Ecotoxicity of chemically stabilised metal(loid)s in shooting range soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 100:201-208. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.003>
 24. Smith, T.J., Stringfellow, W.T. (2010): Identificatiopn of factors from agricultural runoff water on the viability of embryos of the earthworm *Dendrobaena veneta*. *Dynamic Soil, Dinamic Plant* 4(1): 159-161. [http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2010/DSDP_4\(SI1\)/DSDP_4\(SI1\)159-161o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2010/DSDP_4(SI1)/DSDP_4(SI1)159-161o.pdf)
 25. Swarties, F. A. (1999): Risk-based assessment of soil and groundwater quality in the Netherlands: Standards and remediation urgency. *Risk Analysis* 19 (6), pp. 1235-1249. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.1999.tb01142.x>
 26. Ujaczki, E., Feigl, V., Farkas, É., Vaszita, E., Gruiz, K., Molnár, M. (2016): Leache quality from gypsum neutralized red mud applied to sandy soils. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 91(6): 1596-1606.
 27. USDA: https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/ref/?cid=nrcs142p2_054253
 28. Yuzhakova, T., Rédey, Á., Kovács, Zs., Utasi, A., Ráduly, I., Dióssy, L. Ráduly, L., Fazekas, J. (2013) Red mud waste storage problems, solution and utilization alternatives. *Proceedings of Gobar Conference on Environmental Studies (CENVISU-2013)*, Antalya <http://archives.un-pub.eu/index.php/paas/article/viewFile/2302/3622>
- http 1: Alumínium, World Alumínium & European (2015): Bauxite Residue Management: Best Particle https://bauxite.world-alumínium.org/fileadmin/user_upload/Bauxite_Residue_Management_-_Best_Practice__English__Compressed.pdf