



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

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

Készítette: Kerekes Ivett Kriszta

**Gödöllő
2022**

megnevezése: Biológiai Tudományi Doktori Iskola

tudományága: Állatökotoxikológia

vezetője: Dr. Nagy Zoltán
docens
MATE, Növénytermesztéstudományok Intézet

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

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető(k) jóváhagyása

Deklaráció szakmai konzultációs hozzájárulásról

Ez úton szeretném megköszönni **Dr. Feigl Viktória Dóra** (egyetemi adjunktus) a Budapesti Gazdaságtudományi és Műszaki Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport tagjának a **szakmai konzultációs hozzájárulását**, amelyet doktori munkám első szakaszában nyújtott számomra:

1. Köszönöm, hogy témavezetésével a vörösiszappal vörösiszap talajra gyakorolt hatásának vizsgálatát való munkát a kutatócsoportjuk tagjaként 2017-ben elkezdhettem, mint PhD hallgató.
2. Köszönetem illeti, mert szakmai vezetőként segítséget nyújtott a szakmai koncepció kialakításában. Bevezetett a téma legfontosabb kutatási irányába, több szakirodalommal megismertetett, amelyekből kiindulva a munka során bemutatott kísérletek meg lettek tervezve.
3. A felsoroltakon túl, társszerzőként két első szerzős kéziratomban is részt vállalt. Emellett több, a témában kapott eredményeket bemutató konferencia előadáson is társszerzőm.
4. Továbbá a munkám kezdeti szakaszában (-2018 végéig) szakmai segítséget nyújtott a laboratóriumi mérési módszerek (mozgás-frekvencia és elkerülés) kidolgozásában.

Köszönöm a téma során nyújtott segítséget, tanácsokat és javaslatokat!

Köszönettel:

Kerekes Ivett Kriszta

Kerekes Ivett Kriszta

Ez úton szeretném megköszönni **Pusztai Éva** (doktorjelölt, egyetemi tanársegéd) és témavezetője **DR. Kemény Sándor** (Professor Emeritus) a Budapesti Gazdaságtudományi és Kémiai és Környezeti Folyatmérnöki tanszék tagjainak a **szakmai konzultációs hozzájárulásukat**, amelyet doktori munkám teljes időszakában nyújtottak számomra a statisztikai értékelések során:

1. Hálás vagyok, hogy felhívták a figyelmemet a Gage R&R módszerre és segítettek, hogyan lehetne ezt a gyakorlatban ökotoxikológiai mérés pontosságának értékelésére felhasználni.
2. Köszönetet szeretnék mondani a 2022-ben publikált közös cikkünk során a statisztikai értékelések elkészítéséhez, amely eredményeket a dolgozatban is bemutatom.
3. Köszönetet szeretnék mondani az elkerülési módszer értékelése során nyújtott értékes szakmai tanácsaikhoz, amelyek alapján az adatok elemzését el tudtam végezni.

Köszönöm a téma során nyújtott segítséget, tanácsokat és javaslatokat!

Köszönettel:

Kerekes Ivett Kriszta

Kerekes Ivett Kriszta

Ez úton szeretném megköszönni **Dr. Molnár Mónika** (egyetemi docens) a Budapesti Gazdaságtudományi és Műszaki Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport tagjának a **szakmai konzultációs hozzájárulását**, amelyet doktori munkám első szakaszában nyújtott számomra:

1. Köszönöm, hogy a vörösiszappal való munkát a kutatócsoportjuk tagjaként 2017-ben elkezdhettem.
2. Hálás vagyok, hogy több konferencia publikációban, ahol első szerző vagyok társszerzőként részt vett.
3. Szeretném kifejezni hálámat, hogy más publikációban társszerzőként lehetőséget kaptam a közös munkára.
4. Külön szeretném megköszönni, hogy a doktori munkám 2018/2019 II. szemesztere során nyújtott minden segítséget, hozzájárulást és tanácsot.

Köszönöm a téma során nyújtott segítséget, tanácsokat és javaslatokat!

Köszönettel:

Kerekes Ivett Kriszta

Kerekes Ivett Kriszta

Köszönetnyilvánítás

Számos ember van, aki nélkül ez a dolgozat nem készülhetet volna el. Szeretném megköszönni a segítségét témavezetőmnek **Dr. Boros Gergelynek** és közös konzulensünknek **Dr. Nagy Péter** Tanszékvezető Úrnak! Köszönöm a tanácsaitokat, támogatásotokat és segítségeket, amit a doktori időszak során kaptam tőletek!

Hálával tartozom **DR. Bakonyi Gábornak**, aki bölcs meglátásaival számos elakadáson átlendített!

Szeretnék ez úton köszönetet mondani a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóintézet Talajtani Osztályának, akiktől a három természetes kontrollként használt mintatalaj és azok leírása származik.

Szeretném kifejezni hálámat Dr. Ujaczki Évának, aki a doktori munkája során vörössizappal végzett, publikált környezettoxikológiai vizsgálati eredményeit felhasználva jobb kísérleti tervet készíthettem.

Köszönetet szeretnék mondani a **MATE Állattani és Állatökológiai Tanszék** minden a korábbiakban nem nevesített munkatársának, különösképp **Ványiné Surman Ildikónak**, hogy a doktori időszakom alatt tanácsukkal, szakértelmükkel, meglátásaikkal támogatták a munkámat!

Szeretném megköszönni minden hallgatóimnak az együttműködését, külön kiemelve **Bálint Benjaminget** és **Hegyi Zoltánt**, akikkel a közös munkák egy része a disszertációm szerves részét képezi.

Szeretném megköszönni a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport minden itt név szerint fel nem sorolt munkatársának a segítséget, amit kaptam Tőlük.

Szeretném megköszönni Vaszita Emesének, Laufer Ritának és Bolla Elvirának az angol szövegek ellenőrzésében nyújtott segítségüket!

Hálával tartozom családomnak, hogy végig támogattak. Külön szeretném kiemelni Édesanyámat (Bacsó Gizella biológia tanárt), és férjemet (Patányi Illés mérnököt), akik nem csak erkölcsileg támogattak, hanem a szakmai munka során vállalták a kísérleti alany szerepét és „laikus megfigyelőként” közreműködtek a mozgás-frekvencia Gage R&R kísérletekben.

„We don't need any more heroes; we just need someone to take out the recycling”

Szabadjordításban: „Nincs szükségünk hősökre, elég valaki, aki kiviszi a szemetet”

Banksy¹

¹ <https://www.quotetab.com/quotes/by-banksy> (2022. január 5.)

Rövidítések jegyzéke

m/m%: tömegszázalék

EC_x: Az a mérési eredmények alapján kalkulált koncentráció, amely a populáció x százalékában mérhető hatással rendelkezik a vizsgált végpont szempontjából.

EX: 1:20 szilárd részecske: desztillált víz arányú extraktum (MSZ 21978-9:1998 szabvány szerint)

G: 2%-nyi gipsszel kezelt vörösiszap

Gage R&R: Mérőrendszer elemzés egyik fajtája, amelyben a két „R” a reprodukálhatóság és ismételhetőség angol szavainak kezdőbetűje.

GLM model: „General Linear Model”, Általános lineáris modell

GLZ model: „Generalized NonLinear Model”, Általánosított lineáris modell

K: kontroll (kezeletlen talaj az egyes mintaterületek esetén, illetve kezeletlen OECD 220 talaj)

LC_x: Az a mérési eredmények alapján kalkulált koncentráció, amely a populáció x százalékának pusztulását okozza.

LOEC: Lowest Observed Effect Concentration. Az a legkisebb vizsgált koncentráció, amelynek már statisztikailag igazolható hatása van.

MOAC: Maximum Observed Acceptable Concentration. Az a legnagyobb vizsgált koncentráció, amelynek elfogadható mértékű hatása van.

MTA-ATK-TAKI: Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóintézet Talajtani Osztálya

NH: nagyhőrcsöki mintaterületről származó természetes talaj

NOEC: No Observed Effect Concentration. Az a legnagyobb vizsgált koncentráció, amelynek nincs statisztikailag kimutatható hatása.

NY: nyírlúgosi mintaterületről származó természetes talaj

OB: őrbottyáni mintaterületről származó természetes talaj

REACH rendelet: 2007-ben életbe lépett rendelete az Európai Uniónak. A REACH angol betűszó („Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals”). A rendelet a vegyi anyagok regisztrálásával, értékelésével, engedélyezésével és korlátozásával kapcsolatos előírásokat rögzíti.

SU: 1:20 szilárd részecske: desztillált víz arányú szuszpenzió

SZ: szilárd forma

T: kezeletlen vörösiszap (a tározóból)

VI: vörösiszap

Tartalomjegyzék

<u>Nyilatkozat</u>	
<u>Deklaráció szakmai hozzájárulásról</u>	
<u>Köszönetnyilvánítás</u>	
<u>Rövidítések jegyzéke</u>	
	1
1. <u>Bevezetés és célkitűzések</u>	4
2. <u>Szakirodalmi áttekintés</u>	6
2.1. Talaj, mint feltételesen megújuló környezeti elem	6
2.2. (Új) ökotoxikológiai tesztek kritériumai	7
2.3. Talajökotoxikológia	10
2.4. Kevéssertéjűek (Oligochaeta) szerepe a talajökotoxikológiában	11
2.5. Vörösiszap jellemzése, felhasználása és környezeti hatásai	13
3. <u>Anyag és módszer</u>	20
3.1. Vizsgált vörösiszapok és talajok	20
3.2. Tesztorganizmusok	21
3.3. Alkalmazott vegyszerek és egyéb laboratóriumi anyagok, programok	22
3.4. Minták előkészítése	22
3.5. Elvégzett kísérletek átfogó ismertetése	23
3.6. Alkalmazott kísérleti beállítások	24
3.6.1. <i>A mozgás-frekvencia végpont vizsgálatának bemutatása</i>	24
3.6.2. <i>Hígitatlan vörösiszap vizsgálata</i>	25
3.6.3. <i>A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk) vizsgálata</i>	26
3.7. Fizikai és kémiai mérések	27
3.8. Mortalitási teszt módszerek	28
3.9. Mozgás-frekvencia végpont mérés	29
3.10. Eredmények elemzése, statisztikai értékelése	32
3.10.1. <i>A mozgás-frekvencia végpont vizsgálata</i>	33
3.10.2. <i>Fizikai és kémiai mérések értékelése</i>	35
3.10.3. <i>A mortalitási tesztek értékelése</i>	36
3.10.4. <i>A vörösiszap koncentrációkkal végzett mozgás-frekvencia tesztek értékelése</i>	36
4. <u>Eredmények és értékelésük</u>	37
4.1. A mozgás-frekvencia végpont	37
4.1.1. <i>Eredmények</i>	37
4.1.2. <i>Precizitás értékelése</i>	43
4.1.3. <i>Alkalmazhatóság értékelése</i>	44
4.2. A hígitatlan vörösiszap minták vizsgálati eredményei	47
4.2.1. <i>Fizikai-kémiai jellemzők</i>	47
4.2.2. <i>Ökotoxikológiai eredmények</i>	48

4.3. A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk) vizsgálati eredményei	49
<i>4.3.1. A talaj fizikai-kémiai mérések eredményei</i>	48
<i>4.3.2. A vörösiszap koncentriók letális hatása</i>	51
<i>4.3.3. A vörösiszap koncentrációk hatása a gyűrűsférgék mozgás-frekvenciájára</i>	53
4.4. Teszt fejlesztéshez kapcsolódó eredmények átfogó értékelése	57
4.5. A hígítatlan vörösiszap minták vizsgálati eredményeinek értékelése	57
4.6. A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk) vizsgálati eredményeinek értékelése	58
5. <u>Javaslatok, következtetések</u>	63
6. <u>Új tudományos eredmények (tézisek) bemutatása</u>	67
7. <u>Összefoglalás</u>	69
8. <u>Summary</u>	70
Mellékletek	
M1 – Irodalomjegyzék	71
M2- Kísérletek sematikus folyamatábrái	86
M3- Bevezetett fogalmak listája és elvégzett statisztikai próbák összefoglalása	88
M4 - Előkísérleti eredmények	89
M5 - Vízretartóképesség diagramok	90
M6 - A tézisértékű eredményekhez kapcsolódó publikációk listázása	92

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, pontosan milyen eljárással készül az alumínium, a keletkező vörösiszap tulajdonságai eltérhetnek, de általánosságban minden vörösiszatra jellemző az erősen lúgos kémhatás, a nagy víztartókéesség és a nagy mennyiségű szervesetlen elemtartalom.

Annak ellenére, hogy az anyagot az ipari technológiában (pl.: betongyártás, kerámiaipar, technológiai hulladékok semlegesítése), 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 típusal végeztem: egy kezeletlenül (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, azok alkalmazhatóságának vizsgálatát követően.

A fent leírtak alapján 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.

Teszt módszer 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, víztartókéesség, fémtartalom) megváltozásának vizsgálata.

II.2. A vörösiszap akut letális és szubletális hatásainak felmérése televényféreg (*E. albidus*) és földigiliszta-féle (*D. veneta*) teszt fajok alkalmazásával.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Talaj, mint feltételesen megújuló környezeti elem

A talaj a Föld külső szilárd burka, amelynek egyik alapvető tulajdonsága a termékenysége. A termőföld olyan feltételesen megújuló erőforrásunk, amelynek mezőgazdasági hasznosítása a jelenlegi emberi civilizáció fennmaradásához elengedhetetlen (Stefanovits és mtsai. 1999).

A talaj feladatai a következők lehetnek: A növények élőhelyéül szolgál, felvehető tápanyagot és vizet biztosít. Optimális esetben a talajban a táplálékhálózatok önfenntartó és önszabályzó rendszerek. Jó állapotú talajokban a víz-, az energia- és a tápanyagkörforgás dinamikus egyensúlyban van. Mindezek mellett a talaj pufferként is működik, mivel elnyeli a szennyezéseket és bizonyos mértékben megköti a nehézfémeket (Wang és McSorley, 2005).

A talaj csak korlátozott mértékben megújuló természetes erőforrásunk (EEA, 2000). A FAO 2015-ben kiadott jelentésében leírja, hogy a világ talajainak jelentős hányada tűrhető, rossz vagy igen rossz állapotban van.

A talajok romlását, amelynek következményeként a talaj nem képes teljes egészében minden funkcióját maradéktalanul betölteni, a természetes folyamatok és az emberi tevékenység együttesen hozza létre. A talajromlás lehet fizikai, kémiai vagy biológiai minőségromlás, illetve ezek bármilyen kombinációja (Nunes és mtsai. 2020).

A FAO a talajromlás 13 különböző, jelentős folyamatát nevesíti. A szikesedés mellett (FAO, 2015) Európában a tömörödés, a víz- és szél általi erózió, a talajcsuszamlások, a kémiai talajszennyezés, a talajsavanyodás (EEA, 2000), az egyre csökkenő mértékű talajtermékenység, és a talajban végbemenő anyagkörforgalmi folyamatok sérülése a legfontosabbak (Borelli és mtsai. 2017).

Az Európai Unió 2006-ban közölt talajvédelmi stratégiája szerint az európai talajok 12%-a (115 millió hektár) a vízerózió, és 4,4%-a (42 millió hektár) a szélerózió által veszélyeztetett. Becslések szerint az európai talajok majdnem fele (45%) esetén alacsony a szervesanyag mennyiség (különösen Franciaországban, Németországban és az Egyesült Királyságban jelentős ez a probléma) (CEC, 2006).

Magyarországon az Alaptörvény hatályos részei alapján, a 2007. évi CXXIX törvényben rögzítik a talajokra vonatkozó főbb szabályokat (<http2>). Annak ellenére, hogy a termőföld törvényi védelem alatt áll, a legújabb Talajvédelmi Cselekvési Terv (2021) szerint a hazai talajok 60%-a valamilyen módon leromlott állapotú (NEBIG, 2021).

Magyarországon a Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszer (TIM) 1992 óta mára 1200 mintavételi ponttal működik. Hazánkban a talaj szervesanyag ellátottsága a típusának

általánosságban megfelelő, azonban a hazai talajok 15%-a alacsonyabb szervesanyag ellátottsággal jellemezhető, mint amely típusából adódóan elvárható lenne. A foszfor- és káliumellátottság alapján a hazai talajok egyötöde-egyharmada gyenge tápanyagellátottságú. További jelentős probléma a hazai talajok vonatkozásában a szikesedés (Hermann Ottó Intézet, 2016).

Várallyay és munkatársai (1993) munkája szerint a magyar talajok 13%-a erősen savanyú. További 14% ugyan kevésbé savas kémhatású, ám egyéb tényezők miatt (pl. nagy arányú homokfrakció) alacsony pufferképességű és sérülékeny.

A talajok savanyodása igen nagy területeket érint hazánkban. A talajsavanyodás hatására csökken az elérhető tápanyagtartalom, kimosódhatnak kationok. Befolyásolja a felszíni és felszín alatti vizeket minőségét és a talaj biológiai aktivitását. A csökkenő kémhatás mobilizálhatja bizonyos potenciálisan toxikus elemek ionjait (pl.: Al^{3+}). A mobilizáció után az ionok lemosódhatnak a mélyebb rétegekbe, ezáltal a savanyodó talajban tápanyaghiány jön létre, míg a dúsulás helyén toxikus hatást okozhat (Szabó és Szabó, 2021).

Talajjavítás során a talaj fizikai-kémiai tulajdonságainak ideális tartományba hozása a cél, amelyet változatos technológiákkal és (adalék) anyagok alkalmazásával lehet elérni. A 90/2008 (VII. 18.) Földművelésügyi és Vidékfejlesztési minisztériumi rendelet szabályozza azokat az eseteket, amelyek során a talajjavítás indokoltá válik. A rendelet külön kitér a savanyú, szikes és homoktalajok javítására. Talajjavító anyagként laboratóriumban bevizsgált szennyvíziszapot, hígtrágyát, szervestrágyát vagy egyéb talajjavító anyagot (pl.: digóföldek) lehet használni (http 3).

Jelenleg nincs külön szabályozás az ipari hulladékok vagy melléktermékek talajjavításra történő alkalmazásáról.

2.2. (Új) ökotoxikológiai tesztek kritériumai

Az európai Környezetvédelmi Ügynökség szerint az ökotoxikológia a mérgek és toxikus szubsztrátok természetben való előfordulásával és hatásával foglalkozó tudomány (EEA, 2021a). A 21. században a kockázatbecslési eljárások során már a környezeti kockázatok megítélése is egyre fontosabb szerepet kap (EAA, 2021b).

Az új tesztmódszerek létrehozása többlépcsős folyamat, amely során a hatályos szerek külső minősített vizsgálati laboratóriumok bevonásával a módszer hatékonyságát más, már létező nemzetközileg alkalmazott szabványokkal vetik össze (Taylor és Scroggins, 2013).

A tesztek megítélésekor három részét vizsgáljuk a tesztrendszereknek: a tesztorganizmust, a tesztmódszert és stratégiát (vagyis, hogy a tesztmódszer, mint pl.: vizsgált végpont, vizsgált

xenobiotikum hozzáférhetősége a módszer során, összhangban van-e a tesztorganizmussal) (Römbke és mtsai. 2009).

Ahhoz, hogy egy tesztben megfelelően érzékeny és releváns végpontot tudjuk mérni, elengedhetetlen az, hogy megfelelő tesztszervezeten végezzük el a kísérletet. Egy szervezet akkor megfelelő, ha a szubsztrátok széles spektrumára érzékeny, bárki számára jól elérhető, fontos szerepet tölt be az ökoszisztémákban, valamint laboratóriumi körülmények között megfelelően szaporítható és fenntartható a törzstenyésztete (EPA, 1994).

Ezt Römbke és munkatársai (2009) az alábbiakkal egészítik ki: fontos, hogy a faj mellett, hogy az egyes xenobiotikumok hatására érzékeny legyen, általában széles ökológiai niche-t foglaljon el (például: toleráns legyen a hőmérséklet ingadozásra vagy eltérő tulajdonságú talajokban is képes legyen életben maradni).

Calow (1997) szerint a kockázatok számításához ökotoxikológiai mérések (tesztek) eredményét használjuk fel, amelyek felhasználásához egy tesztnek általánosságban a következő kritériumokat kell(het) teljesítenie:

1. Relevancia: a tesztben vizsgált végpont ökológiai szempontból jelentős.
2. Reprodukálható: egy tesztben közel ugyanazt az eredményt kell elérni függetlenül attól, hogy mikor és hol hajtják végre (tehát szabványos tesztmódszereket követve kell elvégezni azokat).
3. Megbízható: lehetőség szerint a törvényileg vagy szakmailag elfogadott nemzetközi tesztmódszereket kell követni.
4. Robusztusság: egyértelmű következtetéseket lehessen levonni, a teszteredmények interpretálása ne egyéni megítélésen alapuljon.
5. Érzékeny: a vizsgált végpont mérése esetén statisztikailag kimutatható változás jöjjön létre a mért stresszorok hatására.
6. Ismételhetség: a megfigyelések az egyes kezeléseken belül a mért eredmény nagysága statisztikailag kimutatható módon nem változik.

A tesztmódszereket vizsgálva úgy találták, hogy egy módszerben a tesztszervezet számára adekvát expozíciós utat kell biztosítani. Fontos, hogy a módszer validálható legyen, és maga a tesztmódszer ne követeljen olyan speciális személyi és tárgyi feltételeket, amely korlátozná az alkalmazhatóságát. Ezen túl a tesztnek világos kritériumokkal kell rendelkeznie, hogy elfogadható legyen a végpont vizsgálatának eredménye (Römbke és mtsai. 2009).

Tesztmódszerek fejlesztése esetén azonban az egyes források a fogalmakat (mint például: megbízhatóság, relevancia) nem kezelik tökéletesen azonosan. Általánosságban véve a jogban definiált fogalmakat szokták alkalmazni: a REACH rendelet alapján „megbízhatóságnak” azt nevezik, amikor feltételezhetjük, hogy az eredményeket általánosan elfogadott tesztmódszer

alapján, bármiféle torzítás nélkül jegyezték le. „Releváns” tesztnek azt nevezzük, amikor a vizsgálati végpont megfigyelése adekvát (tehát direkt vagy indirekt módon hatással van a populáció túlélésére) a környezeti kockázatok felmérése szempontjából (Moermond és mtsai. 2013).

Új (típusú) tesztmódszer és végpontok vizsgálatakor, az ideális ökotoxikológiai teszt kritériumai van Gestel (2012) szerint:

1. Alkalmazhatóság: azaz bárki számára megvalósítható és költséghatékony.
2. Elfogadható: azaz standardizálható, reprodukálható, statisztikai értékelése megfelelő, a végpont kellően érzékeny és megfelelő mértékben ismert.
3. A módszernek vagy végpontnak a természetben van ökológiai jelentősége.
4. A végpont vagy módszer megfelelő mértékben reprezentatív a védendő célcsoportra.
5. A vizsgált végpont egy releváns válaszreakció a szennyezésnek való kitettség következtében, amelynek vizsgálata környezetvédelmi szempontból integrálható eredményeket szolgáltat.
6. A módszer uniform, tehát bármilyen halmazállapotú szennyező esetén, illetve minden közegben elvégezhető.

Ahhoz, hogy az eredményeket a környezeti kockázatbecslési eljárások során megfelelően interpretálni tudjuk, alapvető fontosságú az „ismételhetőség” és a „reprodukálhatóság” vizsgálata (Cassey és Blackburn, 2006). Ezek a fogalmak, ahogyan a „megbízhatóság” és a „relevancia”, nem egyértelműek. A fent ismertetettek alapján úgy látszik, hogy jelenleg az ökológiában és a hozzá kapcsolódó tudományokban „reprodukálhatóság” alatt elsősorban a protokoll kivitelezhetőségét és az adatok elemzését értik, nem azt, hogy az adott protokollal végzett mérések mennyire precízen ismételhetőek (Arzberger és mtsai. 2004).

Jelenleg a teszt kivitelezésének „ismételhetőségét” (pl.: körtesztekkel), tehát egy tesztmódszer elfogadhatóságát csak egyes tudományos szerzők definiálják (Moermond és mtsai. 2013). Amennyiben a teszt ismételhetőségén a kivitelezés precizitását értjük, vagyis azt, hogy bárki, bármilyen ismétlésszámban elhanyagolható mértékű szórással újra el tudja végezni a tesztet, a mérőrendszerképesség vizsgálat iparban széles körben használt Gage R&R módszer alkalmazásával ezt statisztikailag igazolható módon lehet(ne) vizsgálni (Ren, 2015; Mohamed és mtsai. 2018; Wrzochal és Adamczak, 2019; Gerger, 2021).

A Gage R&R elemzés során elsődleges cél, hogy becslést adjunk egyrészt az ismételhetőségi, másrészt a reprodukálhatósági ingadozásra. Ismételhetőség alatt az ugyanolyan körülmények között, ugyanazon személy által végzett ismételt méréseket, reprodukálhatóság alatt pedig a különböző személyek által, különböző napokon végzett méréseket értjük (AIAG, 2010).

Ehhez szükség van adott létszámú megfigyelőre, akik a reprezentatív megfigyeléseket több időpontban pl. több napon (időben ismételve) rögzítik. Ha a mérési eredmények között kimutatható nagyságú különbségek vannak, annak a következő okai lehetnek (AIAG, 2010):

- a mért minták/darabok/egyedek valóban különböznek
- ugyanaz a személy nem mér konzekvensen
- ugyanazt a mintát/darabot/egyedet más személyek eltérően mérik (megfigyelő hatása)
- eltérő mérő személy, eltérő hibával méri a mintát/darabot/egyedet (interakció a megfigyelő személye és a darab között)

A teljes ingadozás jellemző fő részeit az alábbi egyenlet foglalja össze:

$$\sigma_{teljes}^2 = \sigma_{darab}^2 + (\sigma_{ismétlés}^2 + (\sigma_{megfigyelő}^2 + \sigma_{megfigyelő \times darab}^2))$$

Problémát jelent a toxikológiában és az ökotoxikológiában, hogy az egyes organizmusok kissé eltérő tulajdonsága miatt, az új tesztek során még jó tesztmódszereket alkalmazva is a precízen ismételhető mérés csak korlátozottan megvalósítható (OECD, 2006). Így jellemzően a tesztmódszerek csak lassan (évek alatt) válnak szabványosítottá (Taylor és Scroggns, 2013).

2.3. Talajökotoxikológia

A talaj vizsgálata speciális módszereket igényel, mivel a szennyező anyagok ebben a közegben sajátos módon viselkedhetnek (Bakonyi és mtsai. 2009). A talajökotoxikológiában az élővilág minden országát (regnum) vizsgáljuk így mikrobiális (baktérium-, egysejtű-, gombataxonokat), továbbá állati és növényi tesztorganizmusokat is (Cardoso és Alves, 2012).

A 2000-es évekre, az OECD és az ISO vizsgálati rendszerekben egyaránt a szubletális válaszreakciók vizsgálatát szorgalmazzák. A talajökotoxikológiában ilyen jellegű vizsgálati végpont lehet a szaporodás- vagy növekedésgátlás, az anyagcsere folyamatok megváltozása és a viselkedésbeli változás is (van Gestel, 2012).

Az OECD protokollok megjegyzik a viselkedési anomáliák feljegyzésének szükségességét, mivel ezek vizsgálata fontos adatokat biztosít a potenciális toxicitás komplex megítéléséhez. Ennek ellenére a nemzetközi szabványos tesztmódszerek hagyományosan a populáció túlélésére fókuszálnak, így a szabványtesztek között még relatíve alacsony a viselkedést vizsgáló módszerek részaránya (van Gestel, 2012). Jelenleg az elfogadott OECD útmutatók között

kevés a mozgás változáshoz kapcsolódó végpont, többsége az immobilizációt jelöli meg (OECD 202, OECD 235).

Aldaya és munkatársai (2006) munkája szerint a kémiai anyagok három fő módon hathatnak a talajállatokra:

1. Direkt módon letális hatásuk lehet, illetve a csökkenthetik a szaporodás és a táplálkozás sikerességét, ezáltal befolyásolva a túlélést.
2. Indirekt módon befolyásolhatják a táplálékbázist vagy a populációt szabályozó ragadozók sikerességét.
3. Riasztó hatással elkerülési viselkedést válthatnak ki az állatokban.

Az elkerülési viselkedés egy szubletális végpont, amely akut (általában letalitást vizsgáló) módszerek kiegészítéseként szolgálhatnak (Amorim és mtsai. 2008a). Gyűrűsféreg esetén a mozgás megváltozással foglalkozó módszerek (pl. az elkerülési viselkedés) hátterében az a biológiai tulajdonság áll, hogy az állatok a kutikulájukban lévő kemoreceptorokkal folyamatosan monitorozzák a közegük tulajdonságait (Edwards és Bohlen, 1995).

A mozgás megváltozása nem csak elkerülésben nyilvánulhat meg. A mozgásnak számos olyan paramétere van (sebesség, megtett távolság, irányváltoztatás gyakorisága), amelyet fiziológiai tényezők alakítanak. Ezek megváltozása közvetetten szerepet játszik a populáció sikeres fennmaradásában, ezért vizsgálata gyakorlati szempontból is jelentős. Az ilyen végpontok mérésének előnye, hogy rövid időn belül eredményesen modellezhet bizonyos szubletális folyamatokat (Faimali és mtsai. 2010).

A kevéssertéjű gyűrűsféreg mozgásának megváltozásával foglalkozó kutatások részletesebb leírása a következő, vonatkozó alfejezetben (Szakirodalmi áttekintés-2.4. alfejezetében) olvasható.

2.4. Kevéssertéjűek (Oligochaeta) szerepe a talajökotoxikológiában

Mind a szárazföldeken, mind édes- és tengervizekben gyakoriak a különböző gyűrűsféreg fajok (Rouse és Pleijel, 2007). Egy 2003-ban kiadott forrás szerint Földünkön 12000 gyűrűsféreg fajt írtak már le. A dolgozatban vizsgált kevéssertéjűek (Oligochaeta) ehhez a népes csoporthoz tartoznak (Bakonyi, 2003).

A földigiliszta-félék (amilyen a tesztfajként alkalmazott *Denrobaena veneta* faj is) a talajban a makrofauna, a televényféreg (mint például az ebben a munkában tesztfajként alkalmazott *Enchytraeus albidus*) a talaj mezofaunájának a tagjai (Wall, 2012).

A gyűrűsféreg igen fontos lebontó szervezetek. Mind a televényféreg (Enchytraeidae), mind a földigiliszták (Lumbricidae) tevékenységükkel hozzájárulnak a talaj szerkezetének

dinamikus stabilitásához, és dekompozíciós szerepük van (Channarayappa és Birardar, 2019). Ásó tevékenységükkel, a szerves és szerves összetevők keverésével nem csak fizikailag befolyásolják a talajt, hanem annak mikroflóráját is befolyásolják sokféle módon (Coleman és Wall, 2015).

A földigiliszták tevékenységükkel hatással vannak a talaj nedvességtartalmára és a mélyebb rétegekben mérhető hőmérsékletre (Perreault és Whalen, 2006). Meghatározó mértékben képesek növelni a területen élő növények hozamát (van Goernigen és mtsai. 2014), továbbá elősegítik a szennyezések remediációját (Boulin és mtsai. 2013).

A kevésértéjűek táplálkozási tevékenységük során a talaj szerves- és ásványi frakcióját összekeverik. A szervesanyag körforgalomra direkt és indirekt módon is hatnak: részben az emésztő enzimeik közvetlen módon tovább bontják az elfogyasztott szervesanyagokat, részben jelenlétük és tevékenységük hatással van a lebontást végző mikrobiomra (Edwards és Bohlen, 1996).

A tápanyagkörforgás biztosításán túl (Rutgers és mtsai. 2008), a kevésértéjűek hatással vannak a talaj fizikai tulajdonságai közül az aggregátumok stabilitására és a talaj pórustartomány szerkezetére is (Didden, 1991; Didden 1993).

A talajökotoxikológiában már több évtizede alkalmaznak gyűrűsféreg fajokkal végzett nemzetközileg elfogadott, szabványosított tesztek a különböző xenobiotikumok környezeti hatásainak modellezésére (1. táblázat, ASTM E1676-12 (2021)).

1. táblázat. - Kevéssértéjű fajokkal (Oligochaeta) végzett szabványtesztek az talajökotoxikológiában

Család	Teszt faj	Időtartam (nap)	Teszt típus	Szabvány
Lumbricidae	<i>Eisenia fetida</i> / <i>Eisenia andrei</i>	Akut (14)	Mortalitás	OECD 207 ISO 11268-1
		Krónikus (28+28)	Reprodukció	ISO 11268-2 OECD 222
		Akut (2)	Elkerülés	ISO 17512-1
		Maximum 365	Abundancia (szabadföld)	ISO 11268-3
Enhcytraeidae	<i>Enchytraeus</i> sp.	Krónikus (21+21)	Mortalitás, reprodukció	ISO 16387 OECD 220

A földigiliszták a környezet kedvezőtlen változására, mint például szervesanyagtartalom csökkenés, kiszáradás, ragadozók által kifejtett kritikus mértékű stressz, kémiai stresszorok az állatok aktív elvándorlással reagálnak (Schaefer, 2003).

Annak ellenére, hogy a szubletális végpontok vizsgálata, mint amilyen a viselkedés vizsgálatok is, hasznos a xenobiotikumok hatásainak komplex felbecsüléséhez, jelenleg a mortalitási teszteken kívül csak az *Eisenia fetida/andrei* földigiliszta fajok elkerülési viselkedésének vizsgálatára van szabványosított tesztprotokoll. Televényféreg esetén nincs hasonló szabvány, bár több publikált forrásban találunk módszertani leírásokat is (2. táblázat).

2. táblázat. Televényférgekkel (*Enchytraeus* sp.) végzett publikált elkerülési vizsgálatoknál az alkalmazott teszt módszerek főbb jellemzői.

Forrás	Amorim és mtsai. 2008a	Amorim és Scott-Fordsmand, 2012	Domene és mtsai. 2015
Talaj	LUFA 2.2 modelltalaj	Natív dán talaj	Természetes talaj
Tesztedény	25 g nedves tömeg	25 g nedves tömeg	20 g száraztömeg
Ismétlés	7,8*4,3 cm műanyag	7,8*4,3 cm műanyag	5,7*7,3cm műanyag
Hőmérséklet	10 állat – 5 ismétlés	10 állat – 5 ismétlés	20 állat – 6 ismétlés
Fény	20 ± 2 °C	20 ± 2 °C	20 ± 2 °C
Nedvesítés	16 fény: 8 sötét	16 fény: 8 sötét	sötétben
Idő	nedvesen méri be	nedvesen méri be	Vízretartóképesség 50%-ra
Előkészítés	48 h	48 h	72 h
		ISO 2007 teszt	Kezelt talaj előinkubációja

A kevésertéjű (*Oligochaeta*) fajoknak, ahogyan minden gyűrűsféreg taxonnak, bőrizomtömlője van (Bakonyi, 2003). A perisztaltikus „féregmozgás” a gerinctelen állatok jellemzője (Kuroda és mtsai. 2014). A perisztaltikus mozgás a körkörös és egyenes lefutású simaizom láncok komplex összehúzódásából fakadó féregszerű gyűrűző mozgás. Funkcionálisan váltakozó körkörös összehúzódás és ernyedések sorozata (http4).

Talajban élő gyűrűsférgek esetén az állatok ásását két különböző mozgás alkotja: perisztaltikus-mozgásként a szegmensek elongációját és kontrakciója végig a test hosszanti tengelye mentén hullámzó (undulatory) mozgásként a testtájak jobbra-balra vagy fel-le történő elmozdulása (Kristan, 2017).

A gyűrűsférgek perisztaltikus-mozgási sebességét csak néhány kutatás vizsgálja. Quillin (1999) által publikált adatok szerint kapcsolat van az állatok testmérete és a mozgás jellemzői között. A *Lumbricus terrestris* fajt vizsgálva azt találta, hogy a nagyobb testméretű gyűrűsférgek nagyobb abszolút sebességgel, de a testhosszukhoz viszonyítva kisebb relatív sebességgel mozognak. Azt a tényt, hogy a mozgás sebessége függ a testmérettől, mások is megerősítik (Keudel és Schrader, 1999; Pandard és mtsai. 2006; Ruiz és Or, 2018).

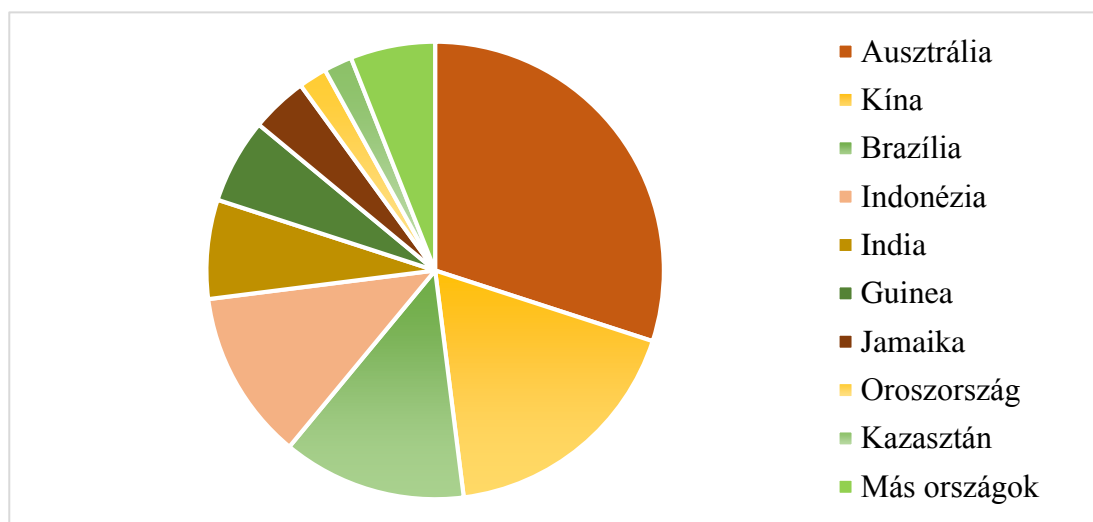
Ruiz és Or (2018) eredményei alapján a talaj minősége befolyásolja a gyűrűsférgek mozgását. Ezen túl a mozgás-frekvenciája az egyes fajok között és az egyes ökológiai csoportokban (anöcikus, endogeikus, epigeikus) is eltérő (*Aporrectodea caliginosa*: 0,041 Hz, *Lumbricus terrestris*: 0,043 Hz) (Keudel és Schrader, 1999).

2.5. Vörösiszap jellemzése, felhasználása és környezeti hatásai

A vörösiszap a Bayer-féle timföld előállítás során keletkező extrém lúgos és nagy elemtartalmú ipari hulladék. A bauxitból lúggal (nátrium-hidroxid vizes oldatával), nagy nyomáson (1-6 atm), viszonylag magas hőmérsékleten (100-230 °C) kivonják az alumíniumot

tartalmazó timföldet. A visszamaradó anyagkeveréket nevezzük a színe és az állaga után vörösiszapnak (Power és mtsai. 2011; Fergusson, 2014).

Minden egyes tonna alumínium gyártás során átlagosan 1,5 tonna vörösiszap keletkezik (Brunori és mtsai. 2005; Evans, 2016; Hua és mtsai. 2017). Az elmúlt 120 évben, amióta ipari technológiával alumíniumot állítanak elő, egy 2011-es becslés szerint 2,7 milliárd tonna vörösiszap keletkezett (1. ábra) (Power és mtsai. 2011).



1. ábra - A világon termelt vörösiszap megoszlása [%] országok szerint (Santini és mtsai. 2015)

Attól függően, hogy egy vörösiszap milyen eljárással keletkezik, különböző fizikai (pl.: pontos szemcseméret) és kémiai tulajdonságok (pl.: pontos összetétel) jellemezhetik (Evans, 2016), de általánosan jellemző az igen magas pH (Power és mtsai. 2011; Fergusson, 2014, Evans, 2016) és nagyobb mennyiségben tartalmaz fém-oxidokat (3. táblázat).

3. táblázat- A vörösiszap főbb összetevői (http 5)

Vegyület	Tömeg-százalék [%]
Fe_2O_3	20-45
Al_2O_3	10-22
TiO_2	4-20
CaO	0-14
SiO_2	5-30
Na_2O	2-8

Ezen túl a vörösiszap igen komplex anyag lehet, amely egyaránt tartalmazhat ásványokat és fémeket (pl.: hematitot, alumínium-hidroxidot, titándioxidot stb.) és potenciálisan toxikus elemeket (pl.: arzén, króm, gallium, urán, vanádium), amelyek koncentrációja az elenyészőtől a 200 mg/kg töménységű között változhat. Annak ellenére, hogy tórium és urán is lehet a vörösiszapban, nem radioaktív anyagként tartjuk számon (Fergusson, 2014).

A vörösiszapot az Európai Unió „nem veszélyes” hulladékként azonosítja (Dentoni és mtsai. 2014). Más szabályozások a kezeletlen nedves vörösiszapot jellemzően veszélyes, de nem toxikus anyagként kategorizálják. Számos országos és nemzetközi egyezmény minősíti (pl.: Eu 2018/C124/08), a Basel-i egyezmény (#B2110) mind humántoxikológiai (szemirritáció, légutak irritációja, bőrkontaktus), mind környezettoxikológiai szempontból maró hatású anyagként azonosítja (Fergusson, 2014).

Magyarországon a vörösiszap a 72/2013 Vidékfejlesztési Minisztériumi rendelete alapján olyan 01 típusú (ásványok kutatásából, bányászatból, kőfejtésből, fizikai és kémiai kezelésből származó) hulladék, amely csak akkor számít veszélyes hulladéknak, ha veszélyes anyagokat tartalmaz (http 13).

A vörösiszap esetén az anyag nedvességtartalmától függően beszélhetünk nedves (~70%), illetve száraz (<35%) tárolásról (Szépvölgyi és Kótai, 2011). A tárolás lehet tengeri vagy szárazföldi (Power és mtsai. 2011).

Mindegyik módszernek megvannak a saját előnyei és hátrányai, amelyeknél elsősorban a földterület használatot vagy helyigényt, költségeket és a potenciális környezeti kockázatot, illetve hatásokat szokták figyelembe venni. 1985 óta egyre több cég választja a tárolási módszerek közül a legolcsóbbat, a szárazföldi lerakóban történő tárolást (Power és mtsai. 2011; Evans, 2016).

A vörösiszapot több felhasználási módon lehet (újra)hasznosítani. Építőanyag esetén habarcsokba és beton elegyekbe keverik. Ezen túl téglába, cserépbe, csempébe is kerülhet. Egyes kémiai folyamatokban (kerámia ipar, műanyaggyártás) katalizátor anyagként, bevonatként, festékpigmentként, geopolimerként használható. Vas és acélgyártás során a bevonatokba rakhatják (Klauber és mtsai. 2011; Fergusson, 2014).

Hulladékkezelési eljárások során mind az iparban (gázok, bányászati hulladékok, szénérőművek füstgáza stb.), mind a környezetvédelemben (szennyezett talajok és iparterületek, bányászati meddőhányók rehabilitációja) felhasználható az anyag (Fergusson, 2014). Visszanyerhetőek belőle különböző ritka vagy iparilag nagy mennyiségben használt fémek (vas) és elemek (szkandium) (Gosh és mtsai. 2011; Fergusson, 2014).

Habár a vörösiszapot több ipari folyamatban is fel lehetne használni, egyre több tároló telik meg, amelyek rehabilitációja napjainkra fontos kérdéssé vált. Kezelés nélkül ritkán előfordul, hogy a tárolásra használt területeket mindenféle rehabilitálási szándékú beavatkozás nélkül a szél és állati vektorok által terjesztett prionír növényzet rekolonizálja. Tervezett rehabilitálás során ásványi anyagok (pl.: gipsz) hozzáadásával a területek gyorsabban alkalmasabbá válhatnak a növényi élet számára (Evans, 2016).

Az adalékanyagok használata mellett bizonyos lezáró anyagok, vagy termőtalajjal történő fedés hatására a terület növényesítése még sikeresebb lehet. Számos nemzetközi példa mutatja

(Németország, Skócia, Franciaország), hogy ezekkel a technológiai beavatkozásokkal sikeresen lehet megkönnyíteni, illetve gyorsítani a folyamatokat (Evans, 2016).

Talajjavító anyagként a vörösiszapszármazékok alkalmasak a vízvisszatartására, segíthetnek a talaj foszfáttartalmát biológiailag felvehető formába hozni, makro- és mikrotápanyag-forrásként szolgálhatnak a növények számára (Fergusson, 2014), megköthetnek, illetve immobilizálhatnak nehézfémeket vagy potenciálisan toxikus elemeket (Garau és mtsai. 2007; Castaldi és mtsai. 2009; Feigl és mtsai. 2012).

Vörösiszap homoktalaj javítására való felhasználásának hatásairól először az 1980-as években publikáltak kísérleti eredményeket (Ho és mtsai. 1989). Az anyag talajjavító adalékanyagként való használhatóságát később is vizsgálták: Summers és munkatársai (1993) foszfor visszatartásra használták, később (1996) különböző semlegesített (pH puffer anyagokkal kevert) vörösiszapok felhasználásával törekedtek legelők hozamának javítására, melyben 40 t/ha koncentrációban a vörösiszap 24%-al növelte a széna mennyiségét.

Snars és munkatársai (2004) azt találták, hogy bizonyos gazdasági előnyök (pl.: alacsonyabb költségek, csökkent foszforkioldódás) figyelembevételével a vörösiszap alternatívát jelenthet a mésszel történő talajjavításra.

A vörösiszap talajhoz való keverése szignifikáns mértékben emelheti a savanyú talajok pH értékét (Li és mtsai. 2010; Ujaczki és mtsai. 2016). Ahogyan azt Fergusson (2014) az összefoglaló munkájában leírja, a nagy víztartó képességgel rendelkező vörösiszapnak a hozzáadása által növelhető a talajokban visszatartott vízmennyiség. Ugyanezt a tényt erősíti meg Banning és munkatársai (2004) munkája.

Egy kutatásban azt találták, hogy 5%-os koncentrációban a vörösiszap képes növelni a savanyú homoktalaj pH értékét és víztartóképességét, anélkül, hogy ökotoxikológiai kockázatot jelentene (Ujaczki és mtsai. 2016).

A vörösiszap toxikus fémekkel szennyezett talajokba keverve immobilizálja a fémeket. Elsősorban a felesleges kadmium, ólom, cink megkötésére használják (Bertocchi és mtsai. 2006; Castaldi és mtsai. 2009; Coruh és Ergun, 2010), de sikeresen alkalmazták réz (Bertocchi és mtsai. 2006) és arzén (Bertocchi és mtsai. 2006; Garau és mtsai. 2011; Lee és mtsai. 2011) esetén is. Egyes kutatások szerint még a talajban eredetileg jelenlévő alumínium toxikus hatását is csökkenti (Li és mtsai. 2010).

Több kutatási eredmény áll már rendelkezésre a vörösiszap ökotoxikus hatásáról az egyes élőlénycsoportok vonatkozásában. A tömény vörösiszap toxikus hatással bírhat a környezetben jelenlévő mikroorganizmusok számára (Mayes és Burke, 2015). A toxikus hatás feltételezhető oka az anyag erős lúgossága (Gräfe és mtsai. 2011). Ez a hatás a mikroorganizmusok esetén letalításban nyilvánul meg, mutagenikus aktivitást nem találtak (Schwarz és Lalik, 2014).

Annak ellenére, hogy a nagy koncentráció toxikus, a vörösiszap savas kémhatású talajokhoz való hozzáadása növelheti a talajban mérhető mikrobiális aktivitás mértékét (Garau és mtsai. 2011). Sanderdon és munkatársai (2014) talajlégzést vizsgáló tesztjében, 4%-os koncentrációban a vörösiszap másfélszeresére növelte a mikrobiális aktivitást. A vörösiszap hozzáadása a talajhoz alapvetően változtatja meg a mikrobiom összetételét (Krishna és mtsai. 2014). Egy kutatás szerint a Gram-pozitív fajok abundanciájának csökkentésével, a Gram-negatív fajok részarányát növeli a talajban (Garau és mtsai. 2011).

Az *Aliivibrio fischeri* baktériumra a pH neutralizált vörösiszap 20%-nyi vizes szuszpenziója toxikus volt. Hasonló eredményt mutatott az ASTM protokollban nevesített *Dunaliella tertiolecta* zöld alga fajjal végzett teszt is (Swarz és Lalik, 2014).

Ezzel szemben egy másik kutatásban a vörösiszappal szennyezett talajminták vizsgálata esetén, a vizsgált talajminta nem volt szignifikáns mértékben toxikus az *Aliivibrio fischerii* tesztorganizmusra. Sőt a vörösiszappal szennyezett talajminták esetén nagyobb mennyiségű aerob heterotróf sejtet lehetett kitenyészteni, mint az alkalmazott kontrollban (Rékási és mtsai. 2013).

A vörösiszap nagy mértékben (54-90%) gátolta három vizsgált növényfaj (*Sinapis alba*, *Lepidium sativum*, *Sorghum bicolor*) gyökérnövekedését (Finngean és mtsai. 2018). Egy újabb kutatásban azt találták, hogy míg a gipsszel neutralizált francia és guyanai vörösiszap csak a 40%-os koncentrációknál nagyobb mennyiségben alkalmazva gátolta szignifikáns mértékben a fehér mustár (*S. alba*) csírázását, addig a kezeletlen vörösiszap minták 10%-os mennyiségben a talajhoz keverve már mérhető módon csökkentették a csírázási sikert (Forrier és mtsai. 2021).

Egyes publikációk szerint a vörösiszap ezeknél jóval alacsonyabb koncentrációban is gátló módon hat a hajtások növekedésére a *Triticum aestivum* (Garau és mtsai. 2014) és a *Lactuca sativa* fajok esetén (Sanderson és mtsai. 2014). Ezzel szemben egyes kutatások azt mutatják, hogy a kis koncentrációk még serkenthetik is a növényi növekedést (5%) (Banning és mtsai. 2014).

Megfelelő mennyiségben (25%) lúgos homokhoz adagolva serkentheti a réti here (*Trifolium pratense*) növényfaj növekedését (Courtney és Timpson, 2005). Balatoni iszappal keverve a vörösiszap kis koncentrációban stimulálta a fehér mustár (*S. alba*) növényfaj növekedését (Forrier és mtsai. 2021).

Szintén ezt erősíti meg a vörösiszap katasztrófa után Kolontárról származó szennyezett talajok vizsgálata. A talajminták mélyebb rétegeinek vizsgálatakor a fehér mustár (*S. alba*) teszt faj gyökér- és szárnövekedése nagyobb mértékű volt, mint a kontroll mintában (Rékási és mtsai. 2013).

A vörösiszap hatással lehet mind a vízi (Blackman és Wilson, 1973; Erős és mtsai. 2015; Fortainer és mtsai. 2015; Olszewska és mtsai. 2016), mind a szárazföldi állatokra. A kezeletlen vörösiszap ökológiai sivatagként működik. Már egy évvel a füvesítés után a prionír közösségben

relatív nagy dominanciával tudnak az ugróvillás fajok kolonizálni. 10 év után már a hangyák és a földigiliszták stabil populációval képesek megjelenni (Courtney és mtsai. 2014). 25% gipsszel kezelt, gombakomposzttal gazdagított, füvesített vörösiszap meddőhányó diverz ízeltlábú közösségnek adott otthont (Courtney és mtsai. 2010).

A vörösiszap talajba kerülve megváltoztatja az ugróvillás közösségben a fajok részarányát, de nincs hatással a teljes abundanciájukra (Mayes és Burke, 2015). Hasonló eredményt kapott Winkler (2014), aki azt találta, hogy a vörösiszap szennyezés megváltoztatja a talajban élő *Collembola* közösségben a fajok dominanciáját.

A *Folsomia candida* faj esetén a vörösiszap hatása függ annak típusától és az expozíciós formától. Egy magyar vörösiszap egy talajoszlop kísérletben csak kevés esetben volt képes letális hatású (Rékási és mtsai. 2013).

Ennek ellentmond az a kutatás, ahol 25% kezeletlen vörösiszap több, mint 90% mortalitást okozott a *F. candida* tesztpopulációban. Fentieken túlmenően, nem csak letális hatása volt, hanem az állatok elkerülési tesztben szignifikáns mértékben kerültek is a kezeletlen vörösiszappal szennyezett talajt. Ugyanez a koncentráció szignifikáns mértékben több, mint 90%-al csökkentette a populáció reprodukciós sikerét (Finngan és mtsai. 2018).

Gyűrűsféreg egyes fajait a környezeti kockázatbecslési eljárások során gyakran alkalmazzák tesztorganizmusként. A vörösiszap környezeti kockázatának megítélésékor indokolt a különböző fajakkal végzett tesztek használata.

Egy vörösiszaphól kivont reagens (metal-loaded Bauxol reagent) nem okozott mortalitást a közönséges trágyagiliszta (*Eisenia fetida*) tesztpopulációban, de nagy koncentrációkban (60%, 80%) gátolta az egyedek növekedését (Maddock és mtsai. 2005). Ezzel szemben a faj érzékeny volt a talajba kevert kezeletlen vörösiszappal (LC₅₀: 37 ± 3,6%). Amennyiben a vörösiszapot nagy koncentrációban (>25%) keverték a talajba, csak a populáció 28%-a élt túl és a reprodukció kevesebb, mint a negyedére csökkent (Di Carlo és mtsai. 2020). A letális hatás nagysága az egyes vörösiszapok esetén különböző. Horvát és magyar vörösiszap mintákat vizsgálva az *E. fetida* faj mortalitása a magyar kísérletben (LC₅₀: 62%) alacsonyabb volt, mint a horvátban (LC₅₀: 40%) (Hackenberger és mtsai. 2019).

Sanderson és munkatársai, (2014) azt találták, hogy az *E. fetida* faj nem tolerálta a vörösiszap hozzáadását az általuk vizsgált ausztráliai talajok esetén. 4%-os koncentrációban, 14 nap múltán totális (100%) letális hatást tapasztaltak.

Az *Allolobophora chloratica* faj egyedei egyáltalán nem éltek túl a kezeletlen vörösiszappal való kitettséget. A szerves, illetve gipszes adalékkal neutralizált vörösiszap minták, ugyan nem okoztak teljes mortalitást, de jelentős súlyvesztést tapasztaltak a tesztpopulációban (Courtney és mtsai. 2020).

A család egy másik faja (*A. longa*) csak a vörösiszapot nem tartalmazó kontroll területeken volt megtalálható (Courtney és mtsai. 2020). Az *E. fetida* fajt vizsgálva már 18% vörösiszap (Gátlási%: horvát vörösiszap (25%): 53,26%; magyar vörösiszap (18%): 68,84%) is képes volt szignifikáns mértékben csökkenteni a tesztpopulációban a juvenil egyedek számát (Hackenberger és mtsai. 2019).

Annak, hogy a vörösiszap toxikus hatású a férgekre ellentmond Finngan és munkatársai (2018) munkája, amely szerint az *E. fetida* populációnak több, mint a fele a 25% vörösiszapot tartalmazó talajt választotta. A két eredmény összehasonlításakor azonban figyelembe kell venni azt a tényt, hogy nem ugyanolyan típusú vörösiszapok hatását mérték fel.

Az eddigi eredmények alapján azt találtuk, hogy a vörösiszap annak típusától, kezelésétől és koncentrációjától függően eltérő módon képes letális és szubletális úton hatni a gilisztákra. Következésképpen minden egyes vörösiszap hatását egyedileg kell értékelni. Mezofaunához tartozó gyűrűsféreg fajok (pl. televényféreg) esetén kifejezetten vörösiszappal vizsgált, független forrásból származó irodalmi adat a saját eredményeimen kívül nem állt rendelkezésre. Ezeket a jelen disszertációban fogom bemutatni.

3. Anyag és módszer

3.1. Vizsgált vörösiszapok és talajok

A vizsgálatok során két magyar vörösiszapot vizsgáltam, amelyek ma már nem működő magyarországi üzemből származtak (É:47°5'19"; K: 17°32'52"):

1. tározóból származó, „kezeletlen” minta (T): összetétele megegyezik azzal, ami a gyártási technológia után az akkori tározóba bekerült, azon semmilyen semlegesítési eljárást nem végeztek, töménységét nem módosították
2. kezelt minta (G), amely vízmentesítés után 2% gipsszel semlegesítve lett.

Mindkét mintát eredeti víztartalommal, levegőtől elzárva, sötétben tároltam. A mintákat szárított-porított vörösiszap porformában használtam fel (Bővebben: Anyag és módszer 3.4. alfejezete).

A kísérletek során OECD modelltalajt (OECD 220) és természetes talajokat is használtam (4. számú táblázat). A kísérletekben használt három természetes mintatalaj a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóintézet Talajtani Osztályának hazai mintaterületeiről származtak: Nagyhörcsökről (NH), Nyírlugosról (NY), Örbottyánból (OB).

4. táblázat- A három vizsgált talaj főbb jellemzői az MTA-ATK-TAKI által mért eredmények alapján. A megadott fémmennyiségek a teljes kioldható fémtartalmat jelölik

Tulajdonság	NH	NY	OB	Tulajdonság	NH	NY	OB
Kötöttség (K_A)	40	26	27	pH (KCl)	7,1	4	7,6
Leiszapolható rész (L%)	46	8	14	Al (mg/kg)	7300	2200	4400
Kation adszorpció (T-érték)	32	5	11	Fe (mg/kg)	11000	3600	5800
Homok% (0,05 mm felett)	17	85	81	K (mg/kg)	1000	300	400
Iszap% (0,05–0,002 mm)	60	10	13	Mg (mg/kg)	3600	500	2900
Agyag% (0,002 mm alatt)	23	5	6	Ca (mg/kg)	27600	400	12900
Higroszkóposzág (hy)	3,2	0,4	0,8	P (mg/kg)	665	173	341
Víztartóképeszég (VK%)	36	30	32	Mn (mg/kg)	498	185	259
Humusz%	3,1	0,5	1	Na (mg/kg)	47	14	62
CaCO ₃ %	1,8	0	3,3	Ba (mg/kg)	55	25	26
pH (H ₂ O)	7,6	4,9	7,7	Zn (mg/kg)	29	12	16

Az OECD modelltalaj (OECD 220) száraz/szárított összetevőkből az alábbi recept szerint állítottam össze:

- 10% tőzeg: szárított, porított, 2 ± 1 mm lyukátmérőjű szitával homogenizált formában
- 20% kaolin agyag
- 0,3-1% CaCO₃, az összetevőktől függően. Feladata, hogy a kész modelltalaj $6 \pm 0,5$ pH értékkel rendelkezzen
- maximum 69,7% homok, amelynek minimum 50%-a 50-200 mikron méretű szemcsékből áll.

A nagyhőrcsöki (NH) talaj vályogos. A mintaterület a Duna-völgyben található. Kémhatása neutrális. A szelvény 30-70 cm-es mélységében mészlepedék található. Vízretartóképessége nagyon jó, szerves anyag tartalma magas. Fémek és félfémek elemekben gazdagnak mondható.

A nyírlugosi (NY) egy savanyú homoktalaj. Az innen eredeztetett talajminta erősen savanyú kémhatású. Uralkodó szemcsetartománya a homok. A talaj kolloidokban, humuszban és tápanyagokban szegény. Termőértéke gyenge.

Őrbottyánban (OB) karbonátos homoktalaj található. Annak ellenére, hogy uralkodó szemcsetartománya a homok, viszonylag gazdag humuszban és karbonátokban. A szerves anyagok a talaj felső rétegében találhatóak, lefele haladva csökken a mennyiségük. Jellemzően egész mélységében tartalmaz szén-savas meszet.

3.2. Tesztorganizmusok

A nagyobb testméretű gyűrűsféreg, a *Dendrobaena veneta* (Rosa, 1886) teszt faj egyedeit speciális boltból (élő csali forgalmazó) szereztem be. A faji azonosítást a kísérletek megkezdése előtt az Eszéki Egyetem, Biológiai Tudományi Tanszékének szakértője (Davorika Hackenberger) végezte el, 2015-ben.

A tesztek elvégzése előtt a tesztállományt az eredeti szállító közegében (magas szervesanyag tartalmú virágföld) 14 napig sötétben, állandó hőmérsékleten (22 ± 2 °C) kondicionáltam.

Tesztelésre az adult (10-12 cm hosszúságú) állatokat használtam fel, amelyeket 48 óráig éheztettem, hogy kiürüljön a béltraktusban felhalmozódott szervesanyag, amely pufferként tudna működni. Az éheztetés során az állatokat huszonötösével átnedvesített laboratóriumi szűrőpapírral bélelt zárható, 200 cm² alapterületű műanyag dobozba tettem. A dobozokat állandó hőmérsékleten (22 ± 2 °C), fénytől elzárva tároltam. Minden esetben legalább kétszer annyi állatot éheztettem ki, mint ahány a teszt elvégzéséhez szükséges volt. Az éheztetett állatok az egyes kezelések ismétléseibe véletlenszerűen kerültek be.

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. A fenntartó tenyészeteket sötétben, állandó hőmérsékleten (22 ± 2 °C) tároltam. A fenntartó közeget (virágföld) hetente nedvesítettem, az állatokat örölt zabpehellyel ettem.

Minden teszt megkezdése előtt szinkrontenyészeteket készítettem, amikben virágföld közegben 50-100 ivarérett, petés egyed azonos korú első generációs utódjait szaporítottam fel. A szinkrontenyészeteket a fenntartó tenyészetekkel megegyező módon kezeltem és tároltam.

A tesztekhez kevert tesztenyészetet készítettem, amely az adott teszthez készült szinkrontenyészetekből (5-10 db) egységesen kivett (jellemzően 50-100 g/szinkrontenyészet mennyiségű) minták összekeverésével készült. Ezzel a homogenizációval csökkentettem az egyes szinkrontenyészetek közötti érzékenységbeli különbségből adódó hiba lehetőségét.

Tesztelésre minden esetben csak az olyan OECD szabvány szerint megfelelő adult állatokat használtam fel (OECD 220), amelyeknek a hossza minimum 1 cm volt. Erre az OECD szabvány ajánlásánál szigorúbb szelektálásra, azért volt szükség, hogy csökkentsem a mozgás-frekvencia végpont vizsgálatok a testhossz eltéréseiből származó különbségeket.

3.3. Alkalmazott vegyszerek és egyéb laboratóriumi anyagok, programok

Talajkivonat készítésekor a hatályos szabványnak megfelelő laboratóriumi szűrőpapírt használtam. A Petri-csészék bélelésére szűrőpapírt (porozitás: 15 μm , hamutartalom: 0,0007%, súly: 80 g/m^2) alkalmaztam.

A mozgás-frekvencia teszt ismételhetőségét és alkalmazhatóságát vizsgáló kísérletsorozatnál a referencia anyagot megváltoztattam: az OECD 220 (televényféreg szaporodásgátlási teszt) alkalmazott referencia anyagként Derosal TM (AgrEvo vállalat, Frankfurt- Németország) vegyszert ajánl, ami egy korábban mezőgazdaságban használt fungicid. Mivel azonban a A REACH rendelet 2007-es hatálya óta ez nem kerülhet forgalomba és a növényvédő szer pontos összetétele sem ismert, továbbá a forgalmazásból már kivonták, így a doktori munkám során referencia anyagként réz-szulfát (Sigma-Aldrich $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\geq 98\%$ tisztaságú, CAS: 7758-99-8) 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.

3.4. Minták előkészítése

A szilárd halmazállapotú vörösiszapot üvegtálcákban, szobahőmérsékleten teljesen vízmentes állapotúra szárítottam. A szárított mintákat dörzsmozsárban elporítottam, majd 2 mm lyukátmérőjű szitán átszitáltam. A fennmaradó agglomerátumokat további porítás után

újraszítottam. A dörzsmozsárban el nem porítható anyagokat(pl. apróbb kavicsok) eltávolítottam a mintából. A folyamatot addig ismételttem, amíg homogén por formájú anyag állt a rendelkezésemre.

Kontroll anyagként a három mintatalaj fent leírtakkal megegyező módon készült porított formáját használtam. A porított mintákat felhasználásig fénytől elzárt helyen, szobahőmérsékleten tároltam. A koncentrációk beállítása tömegmérés alapján történt. Töménységüket a munka során végig tömegszázalékban adom meg. A koncentrációk 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. Mindkét esetben a szárított, porított, előzőleg összekevert mintákat kevertem a desztillált vízhez. Kontroll minták esetén 4,5 g porított talajt kevertem el 45 ml desztillált vízzel. A keveréket többszöri vortexes átkeverés után, 4 órán keresztül 160 rpm-en rázattam, hogy az oldható anyagok teljesen kioldódjanak. A kísérletekben kontrollként a talajok extraktumát alkalmaztam.

Szuszenziók esetén a mintát használat előtt vortexes keveréssel homogenizáltam. Extraktum készítéskor a rázítás után 20 percig 4500 rpm-en centrifugáltam. Az így ülepített minta felülúszóját laboratóriumi szűrőpapíron szűrtem. Az így tisztított mintát és a szuszpenziókat is felhasználásig 6 °C-os hűtőben tároltam. Kontrollként a kontroll talajok ugyanilyen módon elkészített szuszpenzióját használtam.

Amennyiben a mintákból szuszpenziót vagy extraktumot készítettem, azokat mindig frissen (1-7 napon belül) használtam.

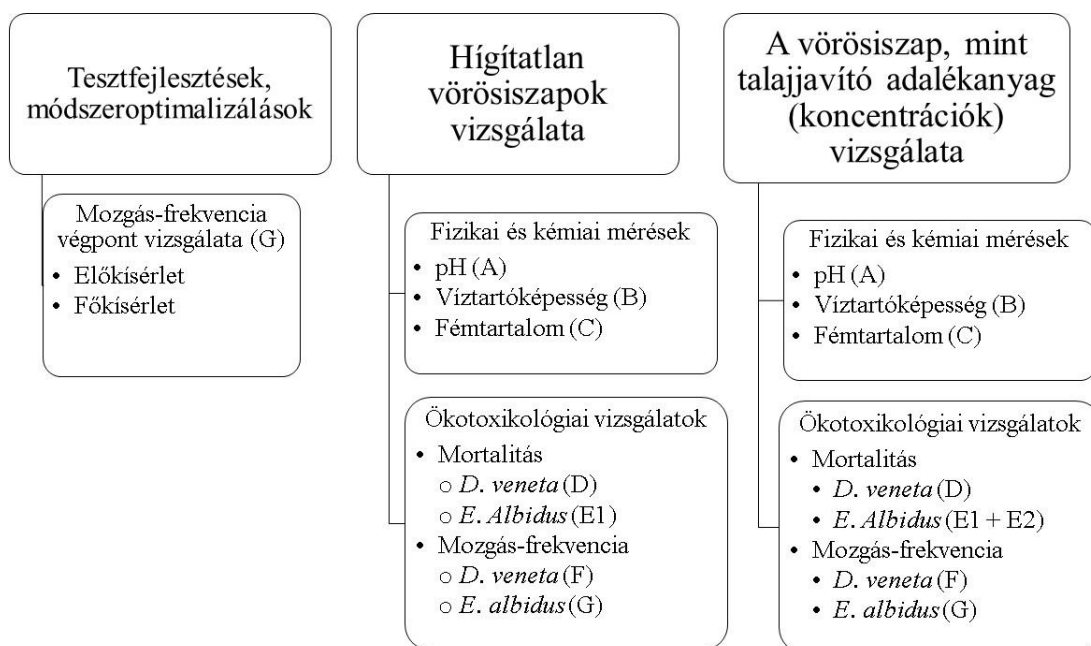
3.5. Elvégzett kísérletek átfogó ismertetése

A kísérleteket a Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem és a Budapesti Műszaki Egyetem laboratóriumaiban 2017- 2021 között végeztem. A kísérleti beállításokat a 2. ábrán mutatom be. Az alkalmazott módszereket, amelyeket betűvel is azonosítok az Anyag és módszer 3.7-9., az kiértékelésüket a 3.10. alfejezeteiben írom le.

A tesztek elvégzése során törekedtem arra, hogy az egyes kezelések ismétlései véletlenszerűen kövessék egymást. Ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy az előkészítés után a különböző kezelések ismétlései esetén magát a vizsgálati módszert véletlen sorrend alapján végeztem el. Ahol külön nem tüntettem fel mást, ott minden esetben kezelésként három párhuzamos mérést (ismétlést) vizsgáltam meg.

Modelltalajt csak a mozgás-frekvencia teszt optimalizálása során elvégzett tesztekkor alkalmaztam. A két hígítatlan vörösiszap esetén kontrollként a kezeletlen vályog talajt (NH-K(0%)) használtam, mivel az irodalmi adatok alapján (pH, víztartókéesség) ez rendelkezett az állatok számára a legjobb életfeltételekkel.

A vörösiszap koncentrációk vizsgálatokor mindkét vörösiszapot mindhárom természetes mintatalajba keverve a felsorolt tesztekkel megvizsgáltam. Csak a három forma (porított talaj, talajkivonat és talajextraktum) vizsgálata kivétel, amelyet kizárólag a toxikusabb (kezeletlen) vörösiszap talajba kevert koncentrációval végeztem el. Mindhárom talajba az összes vörösiszap koncentrációt bekevertem, azokkal a kísérleteket végigcsináltam.



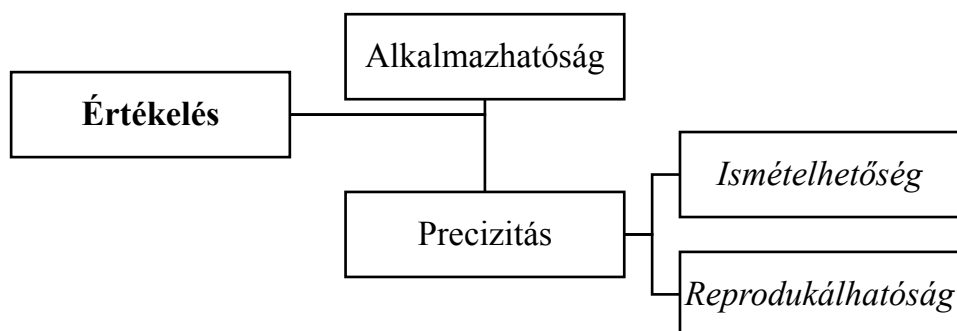
2. ábra- Elvégzett kísérletek az egyes kísérleti szakaszokban (x): alkalmazott tesztmódszer jele

A koncentrációkat a kísérleti szakasz megkezdésekor, egy adagban, egyszer és egyszerre készítettem el. Minden kísérlethez ezt használtam fel. A három ismétlés egyazon bekeverésből származik.

3.6. Alkalmazott kísérleti beállítások

3.6.1. A mozgás-frekvencia végpont vizsgálata

A mozgás-frekvencia végpont vizsgálati módszerének értékelésekor a teszt precizitását (Gage R&R vizsgálat) és alkalmazhatóságát mértem fel (3. ábra).



3. ábra – Mozgás-frekvencia teszt értékelés részeinek hierarchikus rendszere

A precizitás az időbeli ismételhetőséget és a reprodukálhatóságot foglalja magában. Ismételhető, ha a mérés több időpontban is elvégezve hasonlóan pontos. Reprodukálhatónak neveztem azt a tesztet, amely más személyek által elvégezve is hasonló pontosságú. Az alkalmazhatóság (Anyag és módszer 3.11.2. alfejezete) vizsgálatokor azt elemeztem, hogy ökotoxikológiai szempontból mennyire pontosan ugyanolyan következtetéseket lehet levonni (pontosság).

A méréseket modell (OECD) talajjal és CuSO₄ referencia szennyezővel végeztem el. A vizsgálatok során az 5. táblázatban bemutatott koncentrációkat a mozgás-frekvencia teszt használatával vizsgáltam meg.

5. táblázat - Alkalmazott koncentrációk az egyes kísérleti fázisokban (240): a koncentráció mért értékei nem képezik részét a mérési nap hatásának összehasonlító vizsgálatokor

Kísérleti szakasz	CuSO ₄ koncentrációk [mg/kg]	Megfigyelők száma
Előkísérlet	0, 24, 48, 60, 96, 120, 240, 2400	1
Főkísérlet	0, 24, 48, 96, 120, (240)	3

Az előkísérlet során megkerestem a hatásos koncentráció tartományt (range-finding test), majd a fő kísérleti időszak alatt elvégeztük a Gage R&R elemzéshez és az alkalmazhatóság értékeléséhez szükséges tesztek. Az alkalmazhatóság értékelését a három megfigyelő két időpontban történt méréseiből együtt készítettem el.

A megfigyelők a tesztek 3 hét eltéréssel, másik szinkron tenyészetből készített vizsgálati alapsokaságból végezte el. A munka folyamán az ismételhetőség és alkalmazhatóság vizsgálatára végzett kísérletekben a 120 és 240 mg/kg rézszulfát koncentrációjú minták vizsgálatokor 4-4 ismétlést vizsgáltunk meg. A módszer kivitelezését az Anyag és módszer 3.9. alfejezetében a G jelzésű módszerleírás mutatja be.

3.6.2. Hígítatlan vörösiszap vizsgálatának bemutatása

Több kísérletet végeztem a hígítatlan vörösiszap mintákkal. Mindkét vörösiszappal megismételtem a felsorolt tesztek. Kontrollként a nagyhőrcsöki (NH) kezeletlen mintát, nedvesítő anyagként desztillált vizet használtam. A hígítatlan vörösiszapok vizsgálatakor a fizikai és kémiai tulajdonságokat az Anyag és módszer 3.7. alfejezetében bemutatott A-C jelzésű módszerek leírása szerint mértem meg. Az ökotoxikológiai értékelés során az Anyag és Módszer 3.8-10. alfejezeteiben bemutatott D-E1 és F-H jelzésű tesztekkel történt.

3.6.3. A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk) vizsgálata

A vörösiszap környezeti hatásainak felmérésekor használt kísérleti beállításokat és az alkalmazott módszereket a 6. táblázat mutatja be. A felsorolt koncentrációkat mindhárom természetes mintatalaj (NH, NY, OB) esetén megvizsgáltam. Mindhárom talaj esetén a kezeletlen talajok, amelyek 0% vörösiszapot tartalmaztak, voltak a kontrollok.

A *D. veneta* mortalitását a különböző koncentrációkban a mérési adatok alapján nem voltérdemes statisztikai próbával összehasonlítani, mivel még a legnagyobb koncentrációk sem okoztak valódi mortalitást. A közönséges televényféreg (*E. albidus*) teszt faj esetén a mortalitás nem csak a *D. veneta* tesztel párhuzamosan vizsgáltam meg, hanem ezen felül egy külön kísérletsorban is, amikor nem csak a szilárd formák, hanem a koncentrációkból készült talajkivonatok és -szuszpenziók hatását is összehasonlítottam.

6. táblázat - Vizsgált koncentrációk és alkalmazott módszerek a különböző mintatalajok esetén. A szögletes zárójelben látható értékek [x]: statisztikai értékelésből kizárt koncentráció vagy teszt; kerek zárójelben látható értékek (x): a diagrammon a jobb átláthatóság miatt nincs bemutatva, szignifikáns vagy jelentős mértékű változást nem okoz, de a statisztikai értékelésbe bekerült; 0: kezeletlen (kontroll) talaj

Teszt neve (tesztmódszer)	Kezeletlen vörösiszap [%]	Gipsszel kezelt vörösiszap [%]
pH (A)	0, 1, 5, 7,5, 10, 25, 50	0, 2,5, 5, 10, 25, 50
Vízretartóképesség (B)	0, (1), 2,5, 5, 7,5, 10, 25, 50	0, 2,5, 5, 10, 25, 50
Fém tartalom mérés (C)	0, 5, 10, 25, 50	0, 5, 10, 25, 50
[<i>D. veneta</i> mortalitás] (D)	0, 2,5, 5, 10, 25, 50	0, 2,5, 5, 10, 25, 50
<i>E. albidus</i> mortalitás (E1)	0, 1, 5, 10, 25, 50	0, 10, 25, 50
<i>E. albidus</i> mortalitás 3 forma (E2)	0, 1, 5, 10, 25, 50	
<i>E. albidus</i> mozgás-frekvencia (F)	0, [5], 10, 25, 50	0, 10, 25, 50
<i>D. veneta</i> mozgás-frekvencia (G)	0, [5], 10, 25, 50	0, 10, 25, 50

Mivel az 5%-os kezeletlen vörösiszap koncentráció erősebben stimulálta a mozgás-frekvencia megváltozását, mint a 10%-os koncentrációt tartalmazó kezelések, így a statisztikai elemzésből ezeket kizártam (Anyag és módszer 3.11.4. alfejezete).

3.7. Fizikai és kémiai mérések

A: A pH mérésnél a MSZ 21470/2:1981 szabvány szerint dolgoztam. A méréshez a WTW (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Németország) típusú készüléket használtam, amely egy pH 330 mérőműszerből és egy pH-Electrode Sentix 81 elektródból állt. Minden mérés előtt két pontos kalibrálás méréssel beállítottam az elektróda mérési tartományát, amely folyamathoz egy 7-es és egy 10-es pH-jú, a készülékhez tartozó kalibráló pufferoldatot használtam.

Minden esetben szobahőmérsékletű ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) mintákat használtam. Szilárd minták esetén a mérést a porított formák 1:10 arányú szuszpenziójából történt. Mind a szuszpenziók, mind az extraktumok pH értékeit 1:10-es arányban (a készítési szabványuknak megfelelő arányú), a tesztelt mintában mértem.

B: A víztartókéesség mérést az MSZ 21470-2 (1981) visszavont módszere alapján, módosításokkal végeztem el. A mérés során a szárított porított formájú mintákat vizsgáltam meg, mivel az ökotoxikológiai eredmények ilyen módon előkészített mintákról adnak információt.

A víztartókéesség mérés során minden egyes mintából háromszor 25 g-ot vízáteresztő membránnal ellátott 2 cm átmérőjű műanyag csőbe mértem. A kimért mintákat 1 órára derítésig feltöltve vízfürdőbe helyeztem, hogy azok vízzel telítődjenek. A kontaktidő letelte után 3 órára homokágyra helyeztem, hogy az esetlegesen felesleges víz gravitációs úton távozzon.

Az újabb kontaktidő letelte után minden egyes csőből 2 g mennyiséget három nullás pontossággal, analitikai mérlegen izzító tégelybe mértem, amelyeket ezt követően 24 órára 105°C -os szárítókamrába helyeztem. Szárítás után a mintákat újra lemértem és a kapott tömegkülönbség felhasználásával az alábbi egyenlet segítségével számoltam ki a víztartó képességet.

$$\text{Víztartókéesség [\%]} = \frac{m_a - m_b}{m_b} * 100$$

m_a : homokfürdő után mért tömeg; m_b : szárítás után mérhető tömeg

C: A fémtartalom méréshez NITON XL3t 600 (ThermoFischer Scientific) hordozható röntgenfluoreszcenciás készüléket használtam. A mérés azon az elven alapul, hogy röntgenforrás segítségével leszakítunk egy elektront valamelyik, az atommaghoz közeli zárt héjről, ahol így hiány keletkezik. Ez a hiány valamely külső elektronehéjről pótlódik, amely folyamat során akkora mennyiségű energia szabadul fel, amekkora a két elektronehéj energetikai különbsége. Ezt a felszabadult energia mennyiséget képes detektálni az XRF készülék (Potts és Webb, 1992).

A röntgenfluoreszcenciás mérés során roncsolásmentes eljárással nyerhető információ a teljes elemtartalomról. A módszer korlátja, hogy a teljes elemtartamon belül nem ad arról információt, hogy az adott elem pontosan milyen kémiai formában van jelen.

A mérést szárított, porított formájú szilárd mintákból végeztem. Miután a készülék automatikusan minden bekapcsoláskor kalibrálja magát, mintákként 135 mp mérési idővel, 33 különböző elem mennyiségi analízisét végzi el.

3.8. Mortalitási teszt módszerek

Mind a hígítatlan vörösiszap minták, mind a három természetes talajba (NH, NY, OB) kevert koncentrációk (0-50%) letális hatását megvizsgáltam mindkét tesztfajjal (M2- 1. ábra).

D: A nagyobb testméretű tesztfaj (*D. veneta*) esetén a módszer az OECD 207 szabványon alapul, azzal a különbséggel, hogy a mintamennyiséget 40 g/állat volumenre optimalizáltam, Loureiro és munkatársai (2005) munkájában leírt 20 g/állat volumen kétszeres mennyiségeként. A kísérleteimben én csak ismétlésenként 3-3 egyedet teszteltem, mivel a vörösiszap minta csak korlátozott mennyiségben állt a rendelkezésemre, és így kisebb ösztérfogatot alkalmaztam.

10 cm átmérőjű, 500 ml térfogatú üveg tesztedényeket használtam. A tesztedényekbe egyenként 120 g talajt mértem be, amelyet az adott minta víztartóképségének 60%-ra nedvesítettem.

A homogén módon nedvesített talajra helyeztem a tesztállatokat. Az edényeket fénytől védve, állandó hőmérsékleten 20 ± 2 °C-on tároltam.

A tesztleírásnak megfelelően az edényeket a 7. és a 14. napon ellenőriztem. Ekkor összeszámoltam az elpusztult állatokat. Elpusztultnak nyilvánítottam azokat az állatokat, amelyek mechanikai ingerlés hatására sem reagáltak.

A mortalitás mellett az „elutasítást”, mint viselkedési anomáliát is feljegyeztem. Elutasítónak nyilvánítottam azt az állatot, amely a kontaktidő letelte után mechanikai ingerre még mozgott, tehát élt, azonban a természetes viselkedésmintával ellentétben a talajfelszínen maradt, nem mászott le a talaj mélyebb rétegeibe.

E1: A közönséges televényféreg (*E. albidus*) tesztfaj esetén a mortalitást az OECD 207 (vizsgálati idők) és az OECD 220 szabványok (talajmennyiség, nedvesítés, tesztedény, állatszám) alapján tervezett tesztekkel vizsgáltam meg.

Minden egyes edénybe 20 g talajmintát mértem be, amelyet az adott minta víztartóképségének 60%-ra, homogén módon nedvesítettem.

A vörösiszap letális hatásának felmérésekor a hígítatlan minták és a koncentrációk esetén is az erősen lúgos kémhatás miatt 6 cm átmérőjű üvegedényeket használtam, ami amellet, hogy megfelel a szabványban leírtaknak (inert és megfelelő átmérőjű), kisebb környezetterhelést is okoz. A nedvesített talajra 5 állatot helyeztem.

A hígítatlan vörösiszap minták és a koncentrációk esetén az OECD 207 szabvány szerint, 7 és 14 napos leolvasási időket alkalmaztam. Ugyan a 7 és 14 napos a vizsgálati idővel a két faj mortalitásának vizsgálata jobban összehasonlíthatóvá vált, de a vizsgálati idő hossza ellentmondott a szakirodalmi (Amorim és mtsai. 2008b) és előkísérleti eredményeknek (Mellékletek: M4 melléklet).

A tesztek az expozíciós idő alatt, sötétben állandó hőmérsékleten ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) tároltam. Ahogyan a *D. veneta* teszt esetén is, ebben a tesztben is feljegyeztem mind az elpusztult, mind az elutasító viselkedési anomáliát mutató állatok számát.

A kezeletlen vörösiszap mind a hígítatlan minta, mind a koncentrációk vizsgálatok jóval toxikusabbnak bizonyult, mint a gipsszel kezelt, így a kezeletlen vörösiszap talajba kevert koncentrációinak letális hatását egy újabb tesztben is megvizsgáltam. Ekkor is mindhárom vizsgált talaj esetén (NH, NY, OB) minden felsorolt koncentrációt kísérletbe vontam (6. táblázat).

E2: A második tesztben a kezeletlen vörösiszap vizsgált koncentrációt nem csak szilárd formában, hanem vizes szuszpenzió és talajkivonat (extraktum) formában is megvizsgáltam, amely mintákat az Anyag és módszer 3.4. alfejezetében korábban bemutatottak alapján készítettem elő. 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 25-25 g minta került. A megnövelt mintamennyiségre azért volt szükség, hogy az edénybe bekerülő talajréteg ne legyen túl vékony. A minták nedvesítése ez esetben is a víztartó képesség 60%-ára történt.

A talajszuszpenzió és talajkivonat minták vizsgálatok 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.

3.9. Mozgás-frekvencia végpont mérés

A perisztaltikus mozgás-frekvencia (vagy más néven motilitás) vizsgálatát arra a tényre alapoztam, hogy a gyűrűsférgek bőrében környezeti anyagokra szelektíven érzékeny kemoreceptorok találhatóak, melyek jelzései hatással vannak az állatok idegrendszerére, tehát a viselkedésére is (Edwards és Bohlen, 1995).

A végpontot az OECD 220 szabványának kiegészítéseként alkalmaztam. A tesztprotokoll leírásában szereplő „viselkedési anomáliák feljegyzése” mellett, a végpont vizsgálatával további információkat nyerhettünk a viselkedés megváltozásáról.

Mivel a tesztet minden esetben, a letalitási vizsgálattal együtt egyazon tesztedényben végeztem el, a végpont vizsgálatához nem volt szükség további mintamennyiségre, vagy új teszttállatok bevonására (M2-2. ábra).

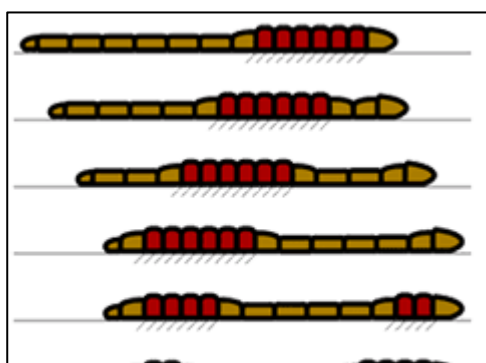
A végpont vizsgálatához nem használtam speciális eszközöket. Ennek oka a Szakirodalmi áttekintés 2.2. alfejezetében bemutatott források alapján a jó végpont egyik ismérve, hogy a mérését bárki (bármely átlagos felszereltségű laboratórium) számára széleskörűen elérhető kell, hogy legyen.

Ezzel a megoldással a teszt kivitelezéséhez csak az OECD 220 szabványában megadott eszközökre van szükség, így valóban módosítás nélkül integrálható lenne a módszerbe, mint pre-screening végpont.

A dolgozatban Kristan (2017) munkájában perisztaltikus-mozgásként definiált hossz tengely mentén történő elongáció-kontrakció sorozat megfigyelése alapján becsültem meg a helyváltoztató viselkedést (http 7).

Az Oligochaeta egyedek perisztaltikus mozgása során jellemzően egyszerre 3-8 szelvény húzódik össze, amelyek így egy a talajszemcsékkel hatékonyan érintkező átmeneti „lát” 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 (Kristan, 2017).

Amikor az első „lát” már a testtáj végén láb, a testtáj elején kialakul egy újabb összehúzódott rész, amely megismétli a folyamatot. Sok esetben egy egyednek egyszerre több ilyen kontraktilis rész is mozgat egyszerre. Az egyes összehúzódások közötti távolságot „lépéshossznak” nevezzük, amelyek között eltelt idő a (mozgás-), „periódus”, vagyis az új láb kialakulásának a sebessége (Kristan, 2017).



4. ábra - Perisztaltikus mozgás sematikus rajza (http 7)

F-G: A végpont vizsgálatára során egy mozgás egység az, amikor az összehúzódás (lát) végigfut a teljes testhosszon, minden szelvényen. Az egységnyi idő alatt ezt számoltuk. (4. ábra).

Mivel az egy egység definíciója így eltérő lehet a módszer fejlesztés során szükséges volt megvizsgálni a megfigyelő befolyásoló hatását. Ahhoz, hogy megtudjam a teszteredményt jelentősen befolyásolja-e a mérő

személye szükséges volt a tesztet több megfigyelő bevonásával is elvégezni (módszerfejlesztési előkísérletként).

Figyelembe véve azt, hogy egy megállapított egysége a mozgásnak egyénenként eltérő lehet (pl.: nem teljesen végigfutott láb kialakulását hogyan ítél meg, reakcióidő az időzítő figyelmeztetésére), ezért a több megfigyelővel végzett kísérletekben a tesztet végző személyek a saját megítélésük szerint, 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 (Anyag és módszer 3.8. alfejezet) részeként alkalmaztam. A vörösiszap mint talajjavító adalékanyag tesztelésekor, hogy elkerüljem a mérési nap befolyásoló hatását, az egy teszt fajjal végzett tesztek azonos alapsokaságból 36 órán belül indítottam el.

A mérés előkészítése tesztenként változott:

F: Mind a hígítatlan vörösiszap mintáknál, mind a koncentrációk vizsgálatánál a *D. veneta* teszt faj esetén az Anyag és módszer 3.9. alfejezetében ismertetett módszerbe integráltam a mérést. A végpont vizsgálata a teszt indításakor egy plusz megfigyelésként történt.

G: Mind a módszerfejlesztést is az Anyag és módszer 3.9. alfejezetében ismertetett közönséges televényféregre (*E. albidus*) alkalmazott talaj- és nedvesítéssel végeztem el, azonban itt természetes talaj (és a kezelések helyett) helyett OECD 220 szabványában leírt modelltalajt használtam.

A módszerfejlesztés vizsgálata során is 20 g/edény talajmennyiséget alkalmaztam, amelyet a víztartókéesség 60%-ra nedvesítettem, de ebben az esetben 6 cm átmérőjű laboratóriumi műanyag teszt edényeket használtam. Mortalitást ebben az esetben nem vizsgáltam.

A vörösiszap ökotoxikológiai vizsgálatát mind a hígítatlan minták, mind a koncentrációk esetén ez esetben is a mortalitási tesztek során történt, a tesztek indításakor.

F-G: Mindkét fajnál a talajfelszínt elegyengettem. A teszt edények előkészítése után a mérési módszert egységesen folytattam.

A végpont vizsgálata során egy darab állatot helyeztem a teszt edénybe, amelynek mozgását a rehabilitációs idő leteltével egymást követően kétszer 10 mp-ig mértük. Rehabilitációs időnek nevezem azt az 1-10 mp időtartamot, amely során az állat perisztaltikus-mozgása egységes ritmusúvá válik, és az állat egy határozott irányba elindul.

A vizsgálat során kizártam minden olyan egyedet a tesztelésből, amely:

1. Láthatóan megsérült.
2. A rehabilitációs idő múltával sem kezdett egységes ritmusú, határozott irányba tartó perisztaltikus mozgásba.

3. A 20 mp mérési idő során az edény falának ütközött vagy rögtön leásta magát a talajfelszín alá.
4. A 20 mp mérési idő során a talajfelszín alól előbukkanó korábban vizsgált egyednek ütközött.

A vizsgálat után nem került új egyed az edénybe addig, amíg az előzőleg vizsgált állat le nem ásta magát a talaj mélyebb rétegeibe vagy ki nem húzódott az edény falához. A vizsgálatból kizárt állatokat eltávolítottuk a kísérleti alapsokaságból.

Összegezve: a vizsgálatokat csak akkor eszközöltem, ha az tesztorganizmus egyedül volt a talajfelszínen (nem került interakcióba más állatokkal). Csak azokat az egyedeket vizsgáltam meg, amelynek a mozgása a mérési idő alatt egyenletes volt.

A mérési módszer fejlesztése során, amikor több megfigyelő dolgozott együtt azok az azonos egyedeket azonos időpillanatban figyelték meg, azonban az eredményeket csak maguknak jegyezték le, a vizsgálat közben nem volt tudomásuk arról, hogy a másik két megfigyelő mit mért.

A három megfigyelő közül, csak a „kezelő”-nek volt tudomása arról, hogy milyen koncentráció, melyik ismétlését mérik. A kísérletek során mindig ugyanaz a megfigyelő végezte el a kísérletes munkát (készítette elő a mintákat, mozgatta az állatokat).

3.10. Eredmények elemzése, statisztikai értékelése

Az általam bevezetett fogalmak definíciója és az összes elvégzett teszt felsorolása a M3 1. táblázatában található.

Poisson eloszlásúak azok adatok, amelyben a mért gyakoriságok olyan diszkrét, nem normális eloszlású változó, ahol ezt egy adott mennyiségben (térfogatban, időtartamban) mérték (Reiczigel és mtsai. 2014).

A víztartókéesség kivételével minden általam vizsgált teszt eredményei (mortalitás-20/25/120 g talajmennyiség, mozgás-frekvencia 10 és 20 mp) Poisson eloszlású adatok, mivel egységnyi mennyiséget mérünk és csak egész értékeket lehet detektálni.

A víztartókéesség mérése során folytonos adatok jönnek létre (Reiczigel és mtsai. 2014), azokat normális eloszlású adatokként elemeztem. A származtatott ökotoxikológiai értékeket (mint pl. gátlási-százalék, stimulációs-százalék) és a normalizált adatokat is normális eloszlású adatokként elemeztem.

A statisztikai próbák elvégzése előtt minden esetben külön ellenőriztem azok alkalmazhatósági feltételeit. A következőekben csak az ennek megfelelő, és így ténylegesen elvégzett teszteredményeket mutatom be.

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 a szignifikancia alapján, így megvizsgáltam és bemutatom a modellek próbastatisztikai eredményeit is. ANOVA modelleknél (GLM modell részeként is) az F-értékek, GLZ modellek esetén a Chi-négyzet próbastatisztikai értékei adnak becslést a változások nagyságára nézve. A nagyobb értékek az erősebb hatásokat mutatják mindkét próbastatisztika esetén.

A modellek eredményeinél a négy vagy több tagú interakcióikat nem mutatom be, mivel azok nehezen értelmezhetőek.

3.10.1. A mozgás-frekvencia végpont vizsgálata

A módszer precizitásának (ismételhetőség és reprodukálhatóság) minősítése Gage R&R vizsgálattal történt.

Az előkísérleti eredmények értékelése során 2 szakmai kérdésre kerestem a választ:

1. Van-e a CuSO_4 koncentrációnak hatása a mozgás-frekvenciára?
2. Okoz-e többletingadozást az, hogy az egyes ismétléseket külön edényekben végezzük el, illetve amennyiben igen mekkora ez az ingadozás?

Az előkísérleti szakaszra vonatkozóan az ANOVA vizsgálatba két faktor került: a koncentráció és a tesztedény. A két faktor viszonya hierarchikus (mivel az egyes edények a koncentrációkban elvégzett ismétlések, így az edény a koncentráció alá van rendelve). A koncentráció rögzített faktorként, a tesztedény véletlen (vagyis random) faktorként szerepel a modellben. Az egyes tesztorganizmusok közötti különbségek a véletlen hibatagtól nem elválaszthatóak, mivel egy egyeddel csak egyszer lehet elvégezni a tesztelést.

A fő kísérletiszakasz első tesztjéből a reprodukálhatóságot (egyes megfigyelők közötti eltérések) értékeltem. A reprodukálhatóság vizsgálata esetén a következő kérdéseket tettem fel:

1. Van-e hatása a koncentrációnak a mozgás-frekvenciára?
2. Okoz-e többletingadozást az edények közötti különbségek, és ha igen mekkora ez az ingadozás?
3. Származik-e többletingadozás abból, hogy más személyek végzik a méréseket? Van-e kölcsönhatás a megfigyelő személye és a többi faktor között? Ha van kölcsönhatás, az mekkora többletingadozást okoz?

Ez esetben három faktor hatását vizsgáltam ANOVA-val: a koncentrációt, az edényt és a megfigyelő személyét. Az előző bekezdésekben kifejtett ok miatt az edény a koncentráció faktorba van ágyazva.

A megfigyelő személye keresztviszonyban van a koncentrációval és minden alá beágyazott faktorról, mivel minden egyes megfigyelő mindegyik koncentrációnak, minden ismétlésében, minden egyedét egymással párhuzamosan megvizsgált. Az egyes egyedek között mérhető érzékenységbeli különbségek ez esetben is a hibatarag részét képezik.

A 3 megfigyelővel végzett teszt megismétlésére azért volt szükség, hogy felmérhető legyen a mérési nap (eltérő állapotú és érzékenységu alapsokaságok) hatása, vagyis az ismételhetőség. A 2 különböző időpontban, azonos 3 megfigyelővel végzett teszt összehasonlítása az alábbi szakmai kérdésekre ad válaszokat:

1. Van-e a koncentrációnak hatása a mozgás-frekvenciára?
2. Az edények okoznak-e többletingadozást és ha igen, mekkorát?
3. A több megfigyelő okoz-e többletingadozást, ha igen mekkorát? Valamint van-e kölcsönhatás a többi mért faktorról és ha igen, ez mekkora többletingadozást okoz?
4. Származik-e többletingadozás abból, hogy másik kísérleti napon, másik időpontban létrehozott szinkrontenyészetekből származó kísérleti sokaságból végezték el a tesztet? Amennyiben igen, ez mekkora ingadozást okoz?

Ebbe az összehasonlító modellbe egy újabb faktor is beépítésre került: a mérési nap. Az előzőekben bemutatott faktorok, illetve azok hierarchiája nem változott. Az egyes egyedek közötti különbségek ez esetben is a hibatarag részét képezik.

A két mérés precizitásának számszerűsítéshez szórásszázalékot is kalkuláltam az alábbi képlet alapján:

$$\text{Szórás\%} = \frac{\text{Átlagos gyöktranszformált mozgás (adott koncentráció szinten)}}{\text{Teljes ingadozás}} * 100$$

A tesztek alkalmazhatóságának (pontosság) értékelése több megközelítéssel történt.

A Gage R&R elemzéssel konzekvensen a három megfigyelő, két mérési időpontban a 0-120 mg/kg koncentráció tartományban mért adatokból vizsgáltam meg az alkalmazhatóságot.

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-százalékokat, 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 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.

Habár egy körtesztől ez annyival különbözik, hogy egy személy végezte a mérést, ezzel jobban megközelítjük azt, hogy mekkora eltéréseket lehetne kapni egy valódi körtesztben.

Ennek elemzésekor a minél kisebb torzítás véget nem a kalkulált EC_x értékek alkalmazásával hasonlítom össze a megfigyelők különböző napon készített méréseit, hanem LOEC és szignifikáns koncentrációkat vizsgálok, amelyek a mért adatokat (nem az adatokra illesztett görbék pontjait) vizsgálják.

A körteszt megközelítés esetén külön elemeztem az adattáblákat. A koncentrációk hatásának felmérésekor mindig a megfigyelőadott napi méréseinek eredeti adattábla gyök transzformációval normalizált mérési adatait teszteltem le egyfaktoros ANOVA próba alkalmazásával. A páronkénti összehasonlításokra Tukey-próbát alkalmaztam.

Az ANOVA csoportok összehasonlításához „azonosság[%]” számoltam. Ez az érték azt mutatta meg, hogy egy koncentrációban hány esetben detektáltak statisztikailag azonos változásokat.

3.10.2. Fizikai és kémiai mérések értékelése

A: Hígítatlan vörösiszap minták kémhatásának összevetésére 2 mintás t-próbát használtam.

A talajminták kémhatásának besorolásakor az USDA (United States Department of Agriculture; Amerikai Mezőgazdasági Hivatal) (8. táblázat) kategóriákat alkalmaztam ([http6](http://)).

8. táblázat: Kémhatás-kategóriák pH érték szerint (USDA alapján)

Kategória	pH	Kategória	pH
Ultra savanyú	<3,5	Semleges	6,6-7,3
Extrém savanyú	3,5-4,4	Enyhén lúgos	7,4-7,8
Nagyon erősen savanyú	4,5-5,0	Közepesen lúgos	7,9-8,4
Erősen savanyú	5,6-6,0	Erősen lúgos	8,5-9,0
Enyhén savanyú	6,1-6,5	Nagyon erősen lúgos	>9,0

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

3.10.3. *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. A fizikailag különálló ismétlés, tehát hogy fizikailag elkülönült teszt eredményeket használok, ideális esetben nem kéne hatással lenniük a mérés pontosságára. Emiatt a teszt eredmények hatását véletlen (random) faktorként vettem bele az elemzésbe.

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

Mindkét ANOVA elemzés esetén a véletlen faktort a hibatag alá integráltam.

3.10.4. *A vörösiszap koncentrációkkal végzett mozgás-frekvencia tesztek értéklése*

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

F-G: Mind a hígítatlan minták, mind a koncentrációk hatásának vizsgálata esetén a mozgás-frekvenciát Reiczigel és munkatársai (2014) által leírt szempontjai alapján Poisson-eloszlású adatként kezeltem.

Az adatok elemzéséhez 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. A teszt eredménynek nem volt statisztikailag és szakmailag jelentős (többletingadozást okozó) hatása.

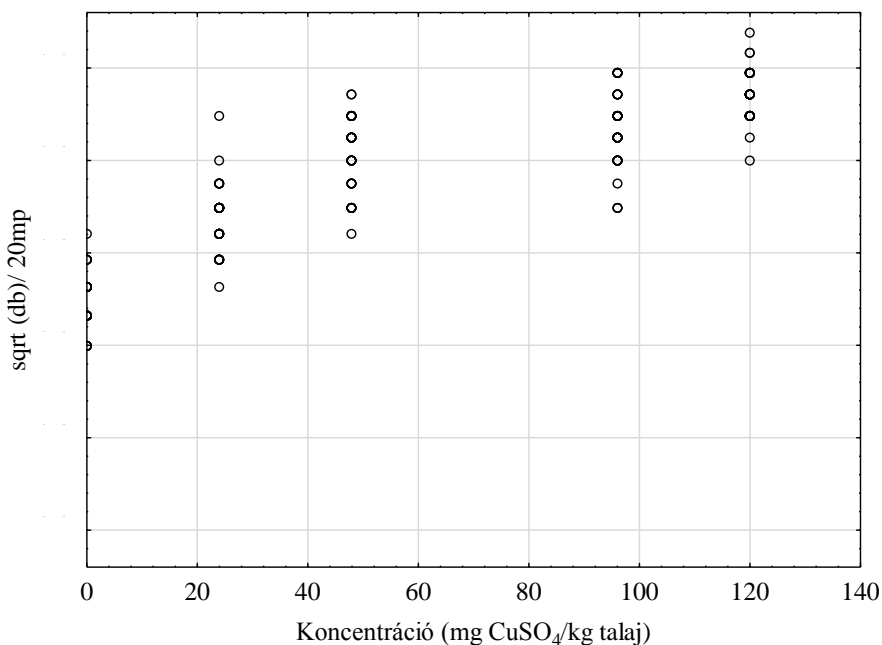
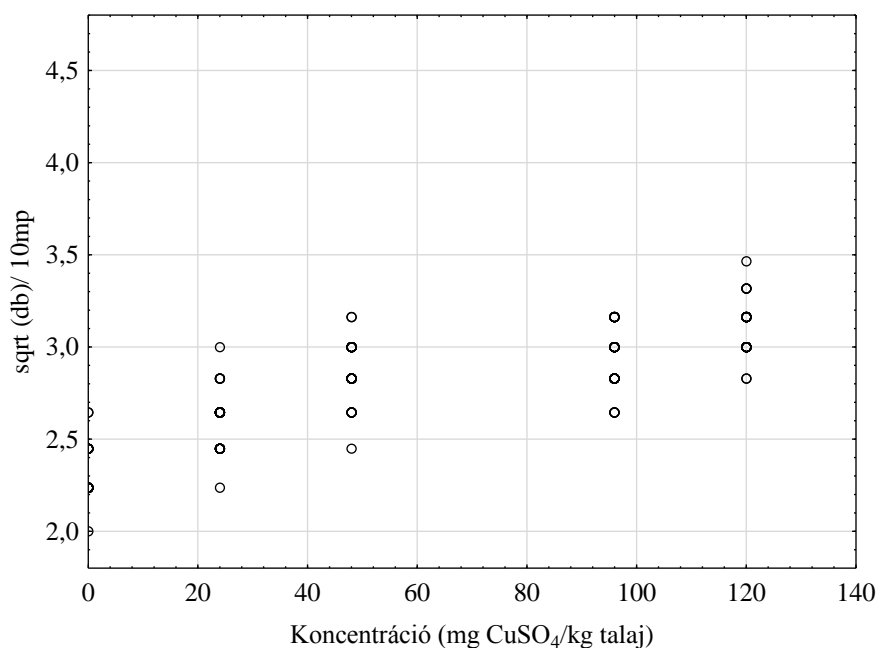
Az adatok jobb összehasonlíthatósága végett mind a hígítatlan vörösiszap, mind a koncentrációk hatásainak vizsgálatakor számoltam stimulációs százalékot is (Anyag és módszer: 3.10.1. alfejezet).

4. Eredmények és értékelésük

4.1.A mozgás-frekvencia végpont

4.1.1. Eredmények

Az előkísérletek (egy megfigyelővel végzett tesztek) során azt tapasztaltam, hogy a 240 mg/kg koncentrációnál már telítetté válik (több információ: M4 melléklet – 1 ábra), így az eredményeket csak a 0-240 mg/kg koncentráció tartományban ábrázolom (5. ábra).



5. ábra- 10 és 20 másodperc alatt mérhető mozgások számának négyzetgyöke a 0-240 mg/kg koncentráció tartományban

A bemutatott elemzésekben a fizikailag különálló egységekből fakadó különbségeket (amely magában foglalja az egyes edényekben lévő, önálló egyedeket is, illetve minden más felmerülő befolyásoló tényező) az „edény” faktor által okozott hibatag tartalmazza.

9. táblázat – Vizsgált faktorok és hatásuk az előkísérletek során

Faktorok	Típus	Eltérés négyzetösszeg	Szabadsági fok	Szórásnégyzet	F-próba	P- érték
10 másodperc alatt mért értékek alapján						
Koncentráció	Rögzített	8,899	6	1,483	29,9	0,000
Edény	Véletlen	0,748	15	0,050	2,6	0,003
Hiba		1,494	79	0,019		
20 másodperc alatt mért értékek alapján						
Koncentráció	Rögzített	16,021	6	2,670	36,3	0,000
Edény	Véletlen	1,109	15	0,074	2,2	0,013
Hiba		2,542	76	0,033		

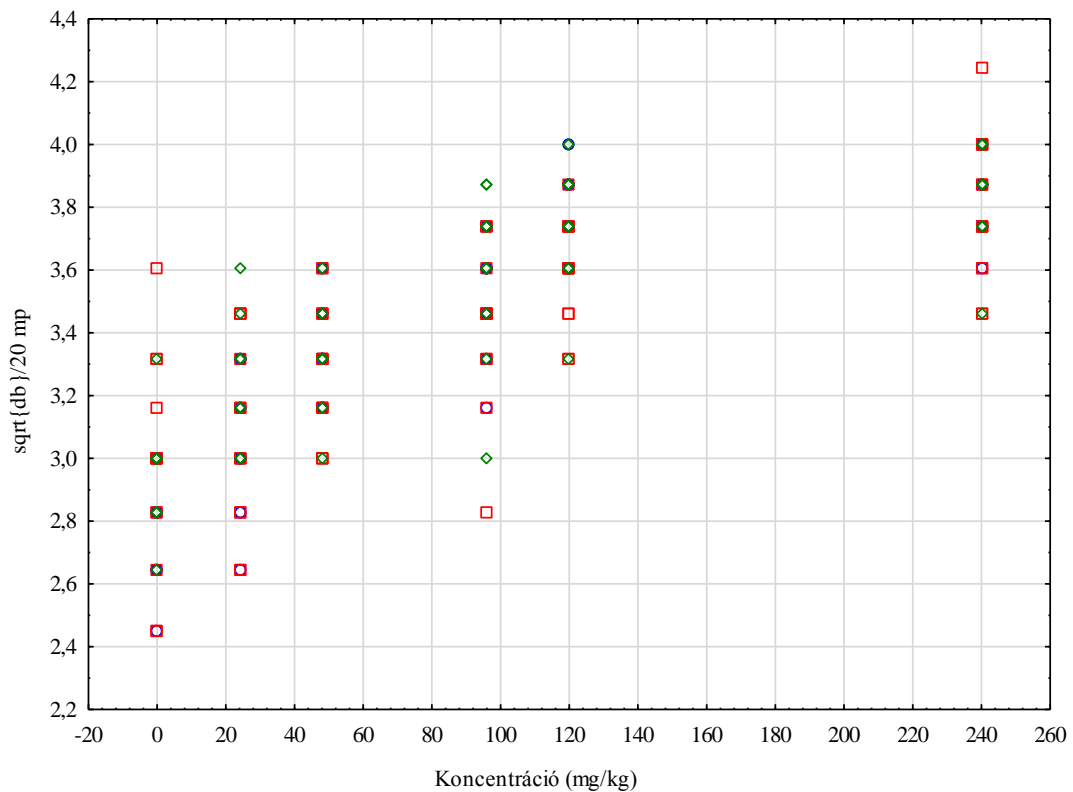
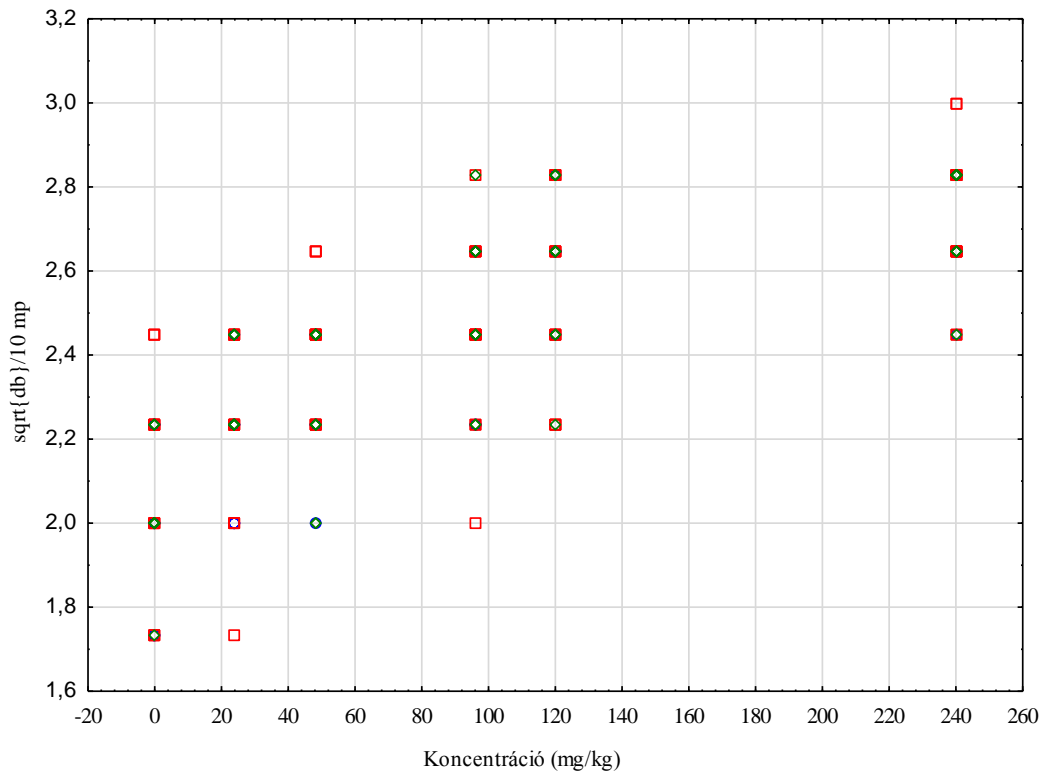
A 10 mp mérési idő eredményeit vizsgálva, mind a koncentráció, mind az edény szignifikáns hatású, ezért nem csak a koncentráció van hatással a mérésre, hanem különbség mutatkozik az egyes edények (ismétlések) között. Ugyanezt az eredményt megerősítik a 20 mp mérési idő eredményei is (9. táblázat).

10. táblázat - Vizsgált véletlen faktor varianciakomponense és a véletlen hibatag az előkísérletek során

10 másodperc alatt mért értékek alapján			20 másodperc alatt mért értékek alapján		
Faktor	Varianciakomponens		Faktor	Varianciakomponens	
Edény	0,007		Edény	0,009	
Hiba	0,019		Hiba	0,033	

A 10. táblázat eredményeiből viszont az látható, hogy az edény (és a hozzá tartozó egyéb befolyásoló tényezők) varianciakomponense mindkét mérési idő (10 és 20 mp) esetén egy nagyságrenddel kisebb a hibatagnál, tehát a mérés precizitására nem volt jelentős hatása.

A fő-kísérletsorozat(3 megfigyelővel végzett tesztek) első kísérleteinek eredményeit a 6. ábra mutatja be. Ahogyan az az ábrán látszik, a megfigyelők sok esetben és több állatnál is ugyanazt az értéket mérték.



6. ábra- Mért értékek négyzetgyöke a három megfigyelő esetén
 kék: 1. megfigyelő, piros: 2. megfigyelő, zöld: 3. megfigyelő

Az 6. ábrán és a 11. táblázatban bemutatott eredmények alapján az figyelhető meg, hogy a mérés precizitását az edény faktor befolyásolta szignifikáns.

Mindkét mérési idő (10 és 20 mp) esetén csak a koncentráció és az edény varianciakomponense volt statisztikailag meghatározó. A megfigyelőnek és kölcsönhatásainak

nem volt kimutatható befolyása, így ebben az esetben a megfigyelő személye nem volt jelentős hatással a mérés precizitására.

11. táblázat – ANOVA elemzés eredményei a három megfigyelővel végzett első teszt esetén

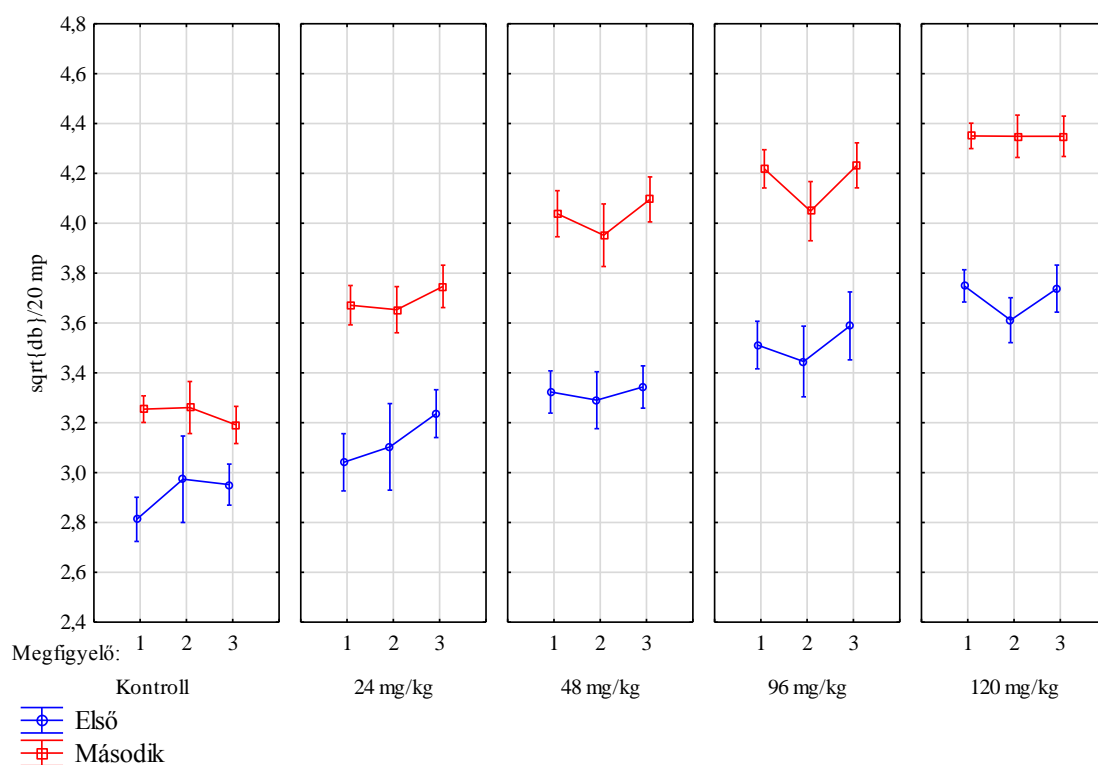
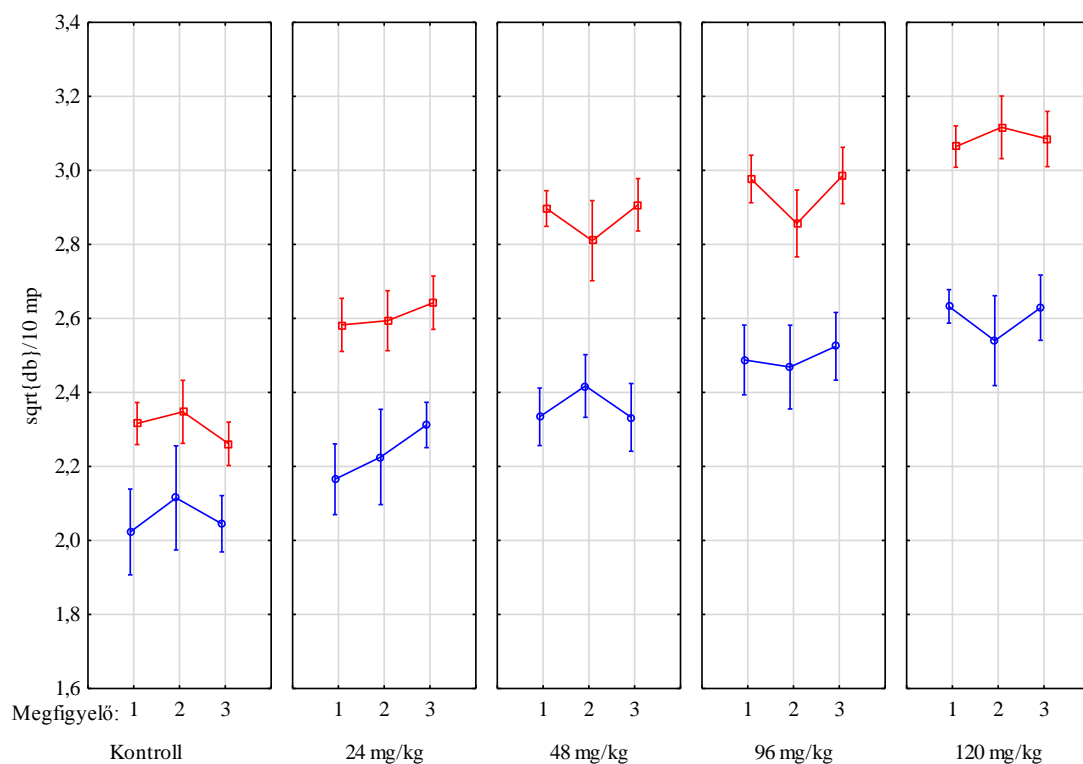
Faktorok	Típus	Eltérés négyzetösszeg	Szabadsági fok	Szórásnégyzet	F- próba	P-érték
10 másodperc alatt mért értékek alapján						
Koncentráció	Rögzített	13,076	5	2,615	39,0	0,000
Edény	Véletlen	0,709	14	0,051	2,9	0,008
Megfigyelő	Véletlen	0,095	2	0,048	1,4	0,284
Megfigy. × Konc.	Véletlen	0,332	10	0,033	1,9	0,084
Megfigy. × Edény	Véletlen	0,485	28	0,017	0,6	0,946
Hiba		6,078	210	0,029		
20 másodperc alatt mért értékek alapján						
Koncentráció	Rögzített	26,678	5	5,336	34,8	0,000
Edény	Véletlen	1,760	14	0,126	5,0	0,000
Megfigyelő	Véletlen	0,330	2	0,165	3,2	0,084
Megfigy. × Konc.	Véletlen	0,515	10	0,051	2,0	0,067
Megfigy. × Edény	Véletlen	0,705	28	0,025	0,8	0,814
Hiba		6,875	805	0,034		

A 12. táblázat eredményei azt mutatják, hogy a tesztedényen kívül a többi vizsgált faktor ebben az esetben sem okozott jelentős többletingadozást. Mivel az edény varianciakomponense még ez esetben is majdnem egy nagyságrenddel kisebb a hibatagénál, így ebben az esetben az sem befolyásolta jelentős mértékben a mérés precizitását.

12. táblázat- Becsült varianciakomponensek az első három megfigyelővel végzett teszt esetén

10 másodperc alatt mért értékek alapján			20 másodperc alatt mért értékek alapján		
Faktorok	Varianciakomponens		Faktorok	Varianciakomponens	
Edény	0,002		Edény	0,008	
Megfigyelő	0,000		Megfigyelő	0,001	
Megfigy. × Konc.	0,001		Megfigy. × Konc.	0,002	
Megfigy. × Edény	0		Megfigy. × Edény	0	
Hiba	0,029		Hiba	0,034	

Az időbeli ismételtetés vizsgálatánál nem csak a megfigyelő, hanem a mérési nap többletingadozást okozó hatását is megvizsgáltam.



7. ábra- A modell által becsült átlagos mozgás a különböző operátorok valamint a 10 mp (felső ábra) és a 20 mp (alsó ábra) mérési idők esetén (kék: 1. mérési nap, piros: 2. mérési nap). A hibásáv a modell által becsült konfidencia intervallumot ábrázolja

A 7. ábrán bemutatott eredmények alapján, látható, hogy a második mérési időpontban aktívabbak voltak az állatok (10 mp alatt átlagosan 10-30% -al többet mozogtak, úgy, hogy a konfidencia intervallum nem növekedett jelentősen).

13. táblázat- ANOVA elemzés eredményei a különböző mérési idők esetén

Faktorok	Típus	Eltérés négyzetösszeg	Szabadsági fok	Szórásnégyzet	F-próba	P- érték
10 másodperc alatt mért értékek alapján						
Koncentráció	Rögzített	24,530	4	6,132	20,9	0,003
Edény	Véletlen	1,589	25	0,064	3,7	0,000
Megfigyelő	Véletlen	0,048	2	0,024	0,5	0,612
Mérési nap	Véletlen	19,534	1	19,534	71,4	0,001
Megfigy. × Konc.	Véletlen	0,323	8	0,040	2,3	0,031
M. nap × Konc.	Véletlen	1,081	4	0,270	4,3	0,009
Megfigy. × Edény	Véletlen	1,002	58	0,017	0,7	0,930
Megfigy. × M. nap	Véletlen	0,042	2	0,021	1,2	0,306
Hiba		8,351	352	0,024		
20 másodperc alatt mért értékek alapján						
Koncentráció	Rögzített	49,329	4	12,332	20,0	0,004
Edény	Véletlen	3,355	25	0,134	0,1	0,000
Megfigyelő	Véletlen	0,413	2	0,207	0,2	0,176
Mérési nap	Véletlen	38,564	1	38,564	38,6	0,001
Megfigy. × Konc.	Véletlen	0,549	8	0,069	0,1	0,004
M. nap × Konc.	Véletlen	2,278	4	0,570	0,6	0,009
Megfigy. × Edény	Véletlen	1,230	58	0,021	0,0	0,899
Megfigy. × M. nap	Véletlen	0,077	2	0,039	0,0	0,173
Hiba		9,638	352	0,028	0,0	

A 13. táblázat eredményei bemutatják, hogy 10 és 20 mp mérési idő esetén is a koncentráció, mérési nap, edény önmagában, a megfigyelő-koncentráció és a nap és koncentráció kölcsönhatása szignifikáns volt. Ezek alapján a koncentrációnak valóban van igazolható hatása. A többi felsorolt faktor által okozott többletingadozás pedig jelentősen befolyásolta a mért mozgás-frekvencia értékeket.

14. táblázat- Varianciakomponensek a 10 és 20 mp mérési idők esetén

10 másodperc alatt mért értékek alapján		20 másodperc alatt mért értékek alapján	
Faktorok	Varianciakomponens	Faktorok	Varianciakomponens
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 14. táblázat eredményein látható, hogy a mérési naptól származó hibatag nagysága többszöröse a hibatagénak, így ebben az esetben a mérési napok különbözősége jelentős többletingadozást okozott, tehát a varianciakomponensét a későbbiekben is szükséges vizsgálnunk.

4.1.2. Precizitás értékelése

15. táblázat A faktorok szintjeinek különbözősége miatti becsült ingadozás-komponensek a mérések során

			Becsült variancia	Ingadozás
10 másodperc alatt mért értékek alapján	Előkísérlet	edény	0,019	0,138
		teljes	0,026	0,161
	3 megfigyelő	edény	0,029	0,170
		megfigyelő	0	0
	Mérési nap hatása	teljes	0,031	0,176
		edény	0,024	0,155
megfigyelő		0,001	0,032	
nap		0,093	0,305	
20 másodperc alatt mért értékek alapján	Előkísérlet	edény	0,033	0,182
		teljes	0,042	0,205
	3 megfigyelő	edény	0,034	0,184
		megfigyelő	0	0
	Mérési nap hatása	teljes	0,042	0,205
		edény	0,028	0,167
		megfigyelő	0,002	0,045
		nap	0,187	0,432
		teljes	0,226	0,475

A 15. táblázatban bemutatott mérések során mindhárom statisztikailag igazolható hatású faktor esetén a becsült varianciakomponensek nagysága közel állandó volt. A táblázat adatainak az értelmezésekor, a szórásnégyzetet a becsült variancia alapján, a szórást pedig az ingadozás alapján közelítem meg.

Ahogy az Poisson-eloszlású adatok esetén várható, a kétszeres mérési időtartam alatt (20 mp) a varianciakomponensek másfélszer nagyobbak lettek. Az eredmények alapján a hagyományos értelemben reprodukálhatóság tökéletlenségéből fakadó ingadozást (eltérő napon tehát alapsokaságból, eltérő mérő végzi el a kísérletet) a mérési nap és így az alapsokaság aktuális érzékenysége határozza meg.

Az eredmények alapján a megfigyelő szempontjából a mérés statisztikai értelemben elég kis szórással reprodukálható. A tesztedények, és ehhez kapcsolódóan az eltérő egyedek által okozott többletingadozás a mérések során nem volt jelentős.

A szórás-százalékok alapján (16. táblázat) a 10 és 20 mp mérési idők között nincs jelentős különbség, tehát a hosszabb mérési idő nem eredményez megbízhatóbb eredményeket.

16. táblázat- Szórás-százalékok az egyes koncentrációkban a különböző mérési idők esetén a két db hárommegfigyelős teszt átlagos eredményeire vonatkoztatva

Koncentráció (mg/kg)	10 mp mérési idő		20 mp mérési idő	
	Mozgásszám négyzetgyöke	Szórás-százalék [%]	Mozgásszám négyzetgyöke	Szórás-százalék [%]
0	2,2	16,0	3,1	15,5
24	2,4	14,3	3,4	13,9
48	2,6	13,3	3,7	12,9
96	2,7	12,8	3,9	12,3
120	2,8	12,3	4,0	11,8

4.1.3. Alkalmazhatóság értékelése

A következőkben bemutatott értékelés során alkalmazhatóság alatt azt értem, hogy a jelenlegi eredmények ökotoxikológiai szempontból mennyire pontosak, vagyis mennyire azonosan mértek az egyes megfigyelők a különböző mérési napokon.

Az alkalmazhatóság értékelésekor a mérés relatíve pontosnak bizonyult, azonban ugyanazon koncentrációk hatásának más időpontban, illetve más megfigyelő által való vizsgálata alapján nem volt tökéletesen azonos.

Mivel a stimulációs-százalék mindig az adott napi kontrollhoz viszonyítja az adatsort, a táblázatban bemutatott értékelés értelmezésekor fontos figyelembe venni, hogy ez némiképp kiegyensúlyozhatja a mérési napok közötti ingadozást.

A 10 mp mérési idő esetén az értékelést az alábbi (17.) táblázat tartalmazza:

17. táblázat – Stimulációs-százalék ANOVA értékelése (GLM modellbe foglalva) a 10 mp mérési idő esetén

	SS	Szabadságfok	MS	F-próba	p-érték
Tengelymetszet	178300,3	1	178300,3	1604,6	0,000
Megfigyelő	1296,7	2	648,4	5,8	0,005
Koncentráció	23699,2	3	7899,7	71,1	0,000
Mérési nap	6438,2	1	6438,2	57,9	0,000
Megfigyelő × Koncentráció	475,9	6	79,3	0,7	0,634
Megfigyelő × Mérési nap	291,3	2	145,6	1,3	0,277
Koncentráció × Mérési nap	568,1	3	189,4	1,7	0,176
Megfigyelő × Koncentráció × Mérési nap	650,1	6	108,4	1,0	0,450
Hiba	6667,3	60	111,1		

A táblázat eredményei alapján az látszik, hogy a koncentráció mellett a megfigyelőnek és a mérési napnak is statisztikailag igazolható hatása. Azonban az *F*-értékek alapján csak a koncentráció és a mérési nap hatása statisztikailag meghatározó, mivel a megfigyelő esetén ez az érték egy nagyságrenddel kisebb.

20 mp mérési eredmények elemzése esetén az alábbi értékelést kaptam (18. táblázat).

18. táblázat- Stimulációs-százalék ANOVA értékelése (GLM modellbe foglalva) a 20 mp mérési idő esetén

	SS	Szabadságfok	MS	F-próba	p-érték
Tengelymetszet	189726,3	1	189726,3	1786,6	0,000
Megfigyelő	7560,3	1	7560,3	71,2	0,000
Koncentráció	1099,8	2	549,9	5,2	0,008
Mérési nap	26429,2	3	8809,7	83,0	0,000
Megfigyelő× Koncentráció	433,6	2	216,8	2,0	0,139
Megfigyelő × Mérési nap	407,0	3	135,7	1,3	0,290
Koncentráció × Mérési nap	246,9	6	41,2	0,4	0,884
Megfigyelő × Koncentráció × Mérési nap	304,9	6	50,8	0,5	0,822
Hiba	6371,8	60	106,2		

A koncentráció hatása az F -értékek alapján egy nagyságrenddel kisebb, így ebben az esetben már az okozott többletingadozás erősebb, mint a koncentráció hatása. Szemben a 10 mp mérési időnél bemutatott eredményekkel ebben az esetben a mérési nap és a megfigyelő hatása is érvényesült.

Külön-külön elemezve (körtesztet imitálva) az adatsorokat, majd az elemzések értékelését összevetve az alábbiakat tapasztalhatjuk:

19. táblázat - A legkisebb szignifikáns vizsgált koncentráció (LOEC) alakulása a különböző mérési napokon az egyes megfigyelők esetén

Megfigyelő	I. nap	II. nap
10 mp megfigyelési idő esetén		
1 megfigyelő	48	24
2 megfigyelő	24	24
3 megfigyelő	24	24
20 mp megfigyelési idő esetén		
1 megfigyelő	24	24
2 megfigyelő	48	24
3 megfigyelő	24	24

Az 19. táblázat eredményei alapján látható, hogy a második mérési napon mindenki ugyanazt a koncentrációt találta szignifikánsnak mindkét mérési időben. Az első mérési napon a különböző mérési időkben egy-egy megfigyelő mást mért.

Az első mérési napon 67%-ban, a második mérési napon a megfigyelők 100%-ban azonos koncentrációkat jelöltek meg a legkisebb szignifikáns hatással rendelkező koncentrációként.

Azt megvizsgálva, hogy az összes koncentráció külön-külön milyen módon volt szignifikáns, a következő eredményeket kapjuk (20. táblázat).

Az eredményeket a sorozatos tesztelésből fakadó hiba miatt, még a Tukey-próba alkalmazásával is csak becslésként lehet értelmezni.

A 10 mp mérési idő esetén a 79,3%-ban állapítottak meg a kontrollhoz képest statisztikailag azonos mértékű változást. A 20 mp mérési idő esetén csak átlagosan 71,0%-ban voltak azonosak az egyes koncentrációk esetén a statisztikailag elkülöníthető csoportok.

20. táblázat- ANOVA teszt eredményei által a koncentrációk hatása a mozgás-frekvenciára az egyes mérési napokon a különböző megfigyelők esetén

A különböző betűk a szignifikáns mértékben különböző csoportokat, a félkövér a kontroll csoporthoz képest való statisztikailag igazolható eltérést jelöli

Megfigyelő/ nap	Koncentráció [mg/kg]									
	0	24	48	96	120	0	24	48	96	120
	10 mp mérési idő esetén					20 mp mérési idő esetén				
1 megfigyelő-1 nap	a	a	c	cd	d	a	b	c	d	e
2 megfigyelő-1 nap	a	ab	b	bc	bc	a	ab	b	bc	c
3 megfigyelő-1 nap	a	b	b	c	c	a	b	b	c	c
1 megfigyelő-2 nap	a	b	c	cd	d	a	b	c	d	d
2 megfigyelő-2 nap	a	b	c	c	d	a	b	c	c	c
3 megfigyelő-2 nap	a	b	c	cd	d	a	b	c	cd	d
Azonosság [%]	83	67	100	67		83	67	67	67	

Amennyiben azt vizsgáljuk, hogy a kontroll alapján hány koncentráció szignifikáns a 10 mp mérési idő esetén a 92,0%-ban, a 20 mp mérési idő esetén 95,8%-ban azonos volt az elemzések eredménye.

4.2.A hígítatlan vörösiszap minták vizsgálati eredményei

4.2.1. Fizikai-kémiai jellemzők

Habár azonos alapanyagokból és technológiával készült, a két különböző beállítású vörösiszap eltérő tulajdonságokat mutatott. 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 22. táblázat eredményeiből jól látszik, hogy a vizsgált vörösiszapok gazdagok voltak potenciálisan toxikus elemekben. Azonban az eredmények szórása igen nagy, tehát egy-egy mintán belül is szélsőségesen alakulhat az elemeloszlás.

A szennyvíziszapokra vonatkozó (50/2001 (IV.3.) Kormányrendelet 5. melléklete) határértékek alapján az arzén, a kobalt, a króm, a higany és a nikkel volt jelen a megengedettnél nagyobb mennyiségben. Illetve fontos megjegyezni, hogy mindkét típusú vörösiszapnak igen magas volt a vanádium tartalma, azonban erre jelenleg nincs hatályos magyar határérték.

22. táblázat- XRF méréssel mérhető átlagos elemtartalom a hígítatlan vörösiszap minták esetén
Határértékek az 50/2001 (IV.3.) Kormányrendelet 5. melléklete alapján (http 8); Félkövér: nagyobb koncentráció, mint amit a határérték engedélyez

Elem	Gipsszel kezelt	Kezeletlen	Határérték
As	144,7±8,1	152,1±2,7	75
Co	83287,5±8870,4	111328,5±3113,1	50
Cr	436,4±40,3	349,8±15,0	1
Cu	106,3±15,4	126,1±3,1	1000
Hg	943,5±279,4	1063,4±216,3	10
Mo	7,5±0,6	17,1±1,6	20
Ni	402,8±15,8	365,9±33,1	200
U	25,2±2,1	27,1±4,8	nincs
Zn	83,7±2,2	100,7±7,2	2500
V	530,3±103,0	709,2±33,4	nincs

A kobalt a kezeletle vörösiszapban hataérték felett volt jelen. A gipsszel kezelt mintában a nagy szórás miatt a mérési eredmény nem értelmezhető relevánsként. Emellett a kobalt, jellemzően inert kobalt-(II/III)- oxid formában van jelen a vörösiszapban. A kobalthoz hasonlóan a nikkel is jellemzően nikkel-(II)-oxid formában van jelen (Power és mtsai. 2011).

Az inert oxid formák fizikai féleségéből adódóan ugyan belélegezve irritálhatja a légutakat (http 9; http12), de amennyiben nincs kiporzás talajba keverve, ez a veszély nem releváns. Fontos azonban elkerülni az anyag kiporzását (ebben segít a nagy víztartóképesség). A kobalt-(II)-oxid jellemzően csak kiporzás után, inhalációs úton képes erős toxicitást kifejteni (http 10).

A higany a vörösiszapban jellemzően inert, szerves formában van jelen (Power és mtsai. 2011), így ebből adódóan aktuális veszélyessége elhanyagolható volt. Potenciális kockázatra

abban az esetben kell számítani, hogyha a higanytartalom egy része felvehetővé válik például bakteriális úton végbemenő metiláció révén.

A fent leírtak alapján potenciális kockázatot az arzén, a kobalt, a króm és a vanádium tartalom jelent, ezért a továbbiakban, a koncentrációk vizsgálatai eredményeinél ezeket fogom részletesen bemutatni.

4.2.2. Ökotoxikológiai eredmények

Mindkét hígítatlan vörösiszap minta 14 nap elteltével letális hatást gyakorolt a nagyobb testméretű faj (*Dendrobaena veneta*) tesztpopulációjára (átlagos túlélés és szórása [%]: G: $22,2 \pm 38,5$; T: $55,6 \pm 50,9$) a 2×2 -s frekvencia tábla alapján, a két talajtípus hatása nem különbözött. Az állatok egyedi toleranciája eltérő volt.

A teszt faj szubletálisan reagált a hígítatlan vörösiszap mintákra. A referencia szinthez viszonyítva (NH-K minta), mindkét típusú vörösiszap szignifikáns mértékben növelte az állatok mozgás-frekvenciáját. A kezeletlen vörösiszap (T: $70,8 \pm 7,9\%$) nagyobb mértékben stimulálta az állatokat, mint a gipsszel kezelt (G: $58,3 \pm 7,0\%$). A különbség a két típus között 2×2 -s frekvencia tábla alkalmazásával statisztikailag is igazolható volt.

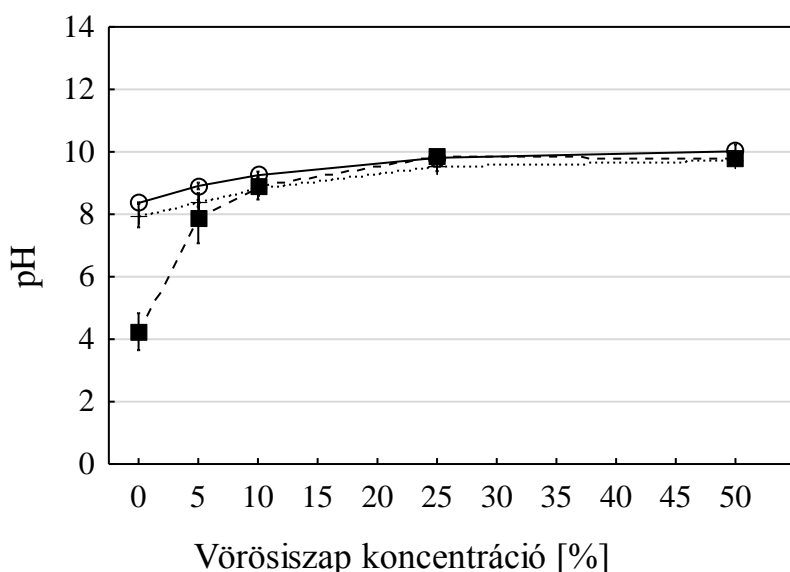
A közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) teszt faj esetén a gipsszel kezelt vörösiszapnak alig volt szignifikáns hatása a túlélésre (átlagos túlélés és szórása [%]: G: $93,4 \pm 11,5$), míg a kezeletlen vörösiszap totális letális hatást gyakorolt a mintapopulációra (átlagos túlélés és szórása [%]: T: $0,0 \pm 0,0$). A 2×2 -s frekvencia tábla alapján két típus közötti különbség statisztikailag is igazolható volt.

Annak ellenére, hogy csak a kezeletlen vörösiszapnak volt szignifikáns mértékű letális hatása, mindkét vörösiszap típus statisztikailag igazolható mértékben megváltoztatta az állatok mozgását (referencia szint: NH-K). A gipsszel kezelt vörösiszap kisebb mértékben stimulálta a mozgás-frekvenciát, mint a kezeletlen (stimulálás mértéke és szórása [%] G: $137,4 \pm 0,0$, T: $141,6 \pm 19,7$). A két típus hatása statisztikailag nem különbözött.

Külön említést érdemel mindkét teszt faj viselkedéséről az a megfigyelés, hogy minden vizsgálatba bevont állat egyöntetűen elutasította a hígítatlan vörösiszap mintákat, még a túlélő egyedek is a vizsgálat teljes ideje alatt a minta felszínén voltak találhatóak, nem vándoroltak le a mélyebb rétegekbe. Ezáltal feltételezhetően kisebb mértékű volt a tényleges expozíció.

4.3. A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk) vizsgálati eredményei

4.3.1. A talaj fizikai-kémiai mérések eredményei

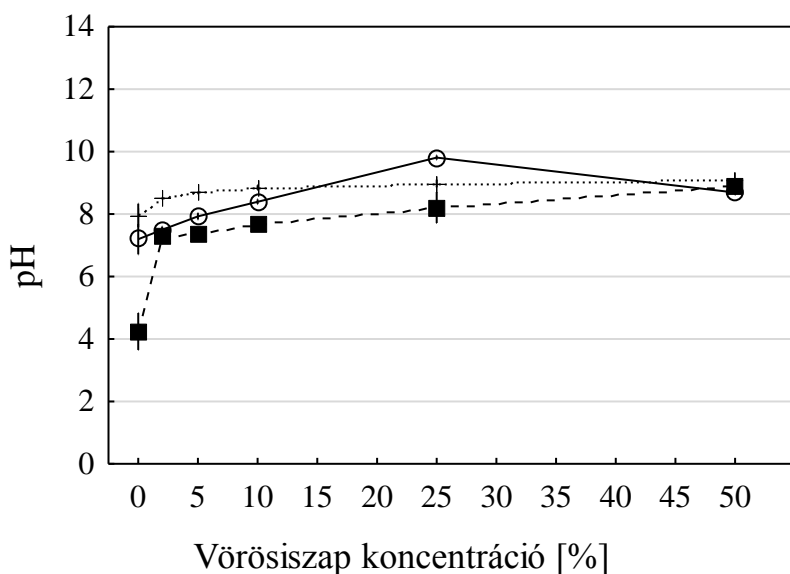


8. ábra- A kezeletlen vörösiszap hatására kialakuló pH emelkedés az egyes mintatalajok esetén. Kereszt: NH, teli négyzet: NY, kör:OB). A hibásáv a konfidencia intervallumot ábrázolja

mintatalajok kémhatását.

Ahogy az 8. ábra mutatja, a kezeletlen vörösiszap hozzáadás hatására a vizsgált koncentrációkban magasabb kémhatás volt mérhető, mint az eredeti kontroll talajok esetén.

Ez a hatás a savanyú kémhatású talaj esetén (NY) volt előnyös, ahol már 5% vörösiszap hozzáadása is neutrális tartományba emelte a talaj eredeti kémhatását. A másik két mintatalaj (NH,



Mivel a három mintatalaj (NH, NY, OB) eredeti kémhatása eltérő, a vörösiszap bekeverése kis koncentrációkban (<5%) másként hatott az vizsgált kezelt talajminták kémhatására. Mindkét vörösiszap típus, mindhárom mintatalaj esetén jól látható tendenciával növelte a talajok pH-értékét.

A két különböző vörösiszap nem azonos mértékben emelte a

OB) esetén is a vörösiszap tovább növelte az egyébként is neutrális vagy annál lúgosabb pH-értéket.

A 9. ábrán látszik, hogy a gipsszel kezelt vörösiszap hozzáadása is növelte az eredeti talajok kémhatását, azonban ez a növekedés kisebb volt, mint a kezeletlen vörösiszap hozzáadásakor.

Gipsszel kezelt vörösiszap hozzáadásakor maximum 5% vörösiszap tartalmat lehetett úgy hozzáadni, hogy a savanyú talaj (NY) kémhatása semlegessé váljon, illetve a másik két mintatalaj (NH, OB) kémhatása ne érjen erősebb lúgosságú besorolást.

A vörösiszap hozzáadása az alkalmazott koncentrációtól függően szignifikáns mértékben tudta növelni a talajok víztartókéességét, azonban a hatás mértéke mind a három mintatalaj, mind pedig a két különböző típusú vörösiszap esetén különbözött (23. táblázat).

23. táblázat- Víztartókéességre ható faktorok az ANOVA teszt alapján

	SS	Szabadságfok	MS	F-próba	p-érték
VI típus	317,89	1	317,89	17,9	0,000
Talajtípus	4491,50	2	2245,75	126,4	0,000
Koncentráció	1548,68	5	309,74	17,4	0,000
Error	1261,36	71	17,77		

A két vörösiszapot együtt vizsgálva, a kezeletlen vörösiszap nagyobb mértékben növelte a víztartókéességét, mint a gipsszel kezelt. Annak ellenére, hogy mindhárom vizsgált faktor szignifikáns mértékben hatott az F-próba értékeit megfigyelve azt találjuk, hogy a talaj eredeti víztartókéessége volt a legerősebben meghatározó faktor.

A koncentrációk közül, csak a 10% vagy annál nagyobb vörösiszap tartalmú kezeléseknél volt szignifikáns mértékű hatása (Faktorok hatásairól a diagramokat lásd: Mellékletek: M5-3. melléklet).

A tárolt vörösiszap esetén már a kis koncentrációk is szignifikáns mértékben növelték a víztartókéességét. A legnagyobb mért koncentrációk kb. 10%-kal növelték a talaj víztartókéességét (Diagramokat lásd: Mellékletek M5- 4. és 5. melléklet).

A 24. táblázat eredményei alapján jól látszik, hogy a talaj eredeti elemtartalmától függően, akár már 5% vörösiszap hozzáadás is határértéket meghaladóra növelte az egyes potenciális toxikus elemek mennyiségét.

A vörösiszapban jelenlévő kobalt az 50%-nál kisebb koncentrációkban kimutatási határérték alatt volt. Csak egy ismétlésben tudtam megmérni a koncentrációt a gipsszel kezelt vörösiszap esetén NH 50% kezelésben (130,85 ppm).

A legmagasabb biztonságos koncentráció jelentősen eltér az egyes talajok esetén. A vályogtalaj (NH) esetén a vörösiszap hozzáadás már a legkisebb vizsgált koncentrációban is határértéket meghaladó elemtartalmat eredményezett. A neutrális homoktalajban (OB), mindkét vörösiszap hozzákeverésekor maximum 5%-os koncentrációban nem kellett számolni az elemtartalomból eredő kockázattal.

A legnagyobb mértékben a savanyú homoktalajba (NY) volt bekeverhető a vörösiszap. A gipsszel kezelt típus 10%-os koncentrációban -, a kezeletlen típus 5%-os koncentrációban nem növelte potenciálisan toxikus mértékben az elemtartalmat.

24. táblázat- Potenciálisan toxikus elemek átlagos mennyisége (\pm szórás) az egyes koncentrációk és talajok esetén. <KH: kimutatási határ alatt; félkövér: határértéket meghaladó mennyiség, As, Cr: 6/2009 Kormány Rendelet (http 11); V: Swarties, 1999

	As [mg/kg] 15		Cr [mg/kg] 75		V [mg/kg] 250	
	T	G	T	G	T	G
NH						
K	11,0 \pm 0,2	11,0 \pm 0,2	35,2 \pm 7,9	35,2 \pm 7,9	41,0 \pm 2,2	41,0 \pm 2,2
5%	18,5\pm1,4	17,4\pm4,1	81,0\pm16,4	53,8 \pm 14,4	98,46 \pm 8,48	81,8 \pm 31,4
10%	23,1\pm1,6	23,6\pm0,9	79,9\pm9,4	101,2\pm4,9	115,0 \pm 6,89	112,19 \pm 9,2
25%	40,7\pm2,4	42,5\pm5,0	116,7\pm15,5	149,7\pm14,0	189,4 \pm 5,8	183,5 \pm 44,3
50%	69,5\pm8,0	71,6\pm16,9	176,2\pm6,0	262,6\pm64,9	342,1\pm31,1	353,4\pm83,2
NY						
K	<KH	<KH	19,5 \pm 12,2	19,5 \pm 12,2	<KH	<KH
5%	9,45 \pm 1,6	7,2 \pm 2,0	27,4 \pm 11,4	17,8 \pm 5,5	66,0 \pm 9,6	36,4 \pm 0,0
10%	15,7\pm3,0	14,3 \pm 7,0	63,4 \pm 1,0	58,9 \pm 27,0	116,9 \pm 8,8	73,7 \pm 47,3
25%	33,0\pm3,2	34,6\pm0,7	107,4\pm16,4	167,0\pm30,6	213,2 \pm 21,5	195,8 \pm 39,6
50%	61,0\pm3,4	57,8\pm22,7	241,4\pm16,1	261,4\pm68,4	353,4\pm3,0	245,1 \pm 18,4
OB						
K	4,8 \pm 0,0	4,8 \pm 0,00	<KH	<KH	33,2 \pm 0,0	33,2 \pm 0,0
5%	9,1 \pm 1,6	11,9 \pm 4,2	37,7 \pm 8,7	33,2 \pm 17,9	74,7 \pm 7,2	56,3 \pm 27,2
10%	19,3\pm3,9	17,2\pm3,9	79,3\pm25,6	70,2 \pm 2,2	141,8 \pm 20,4	86,3 \pm 15,0
25%	30,1\pm0,9	40,1\pm3,5	101,1\pm9,4	179,8\pm44,6	199,0 \pm 11,1	235,4 \pm 58,9
50%	59,6\pm3,6	101,1\pm2,2	199,3\pm24,4	321,6\pm70,7	343,46\pm53,5	365,6\pm67,8

4.3.2. A vörösiszap koncentrációk letális hatása

A nagyobb testű teszt faj (*D. veneta*) mindkét vörösiszap minden vizsgált koncentrációját túlélte. A tárolt vörösiszap esetén NY-10% és a gisszel kezelt vörösiszap esetén a NH-50%-s koncentrációjában pusztult el egy-egy egyed.

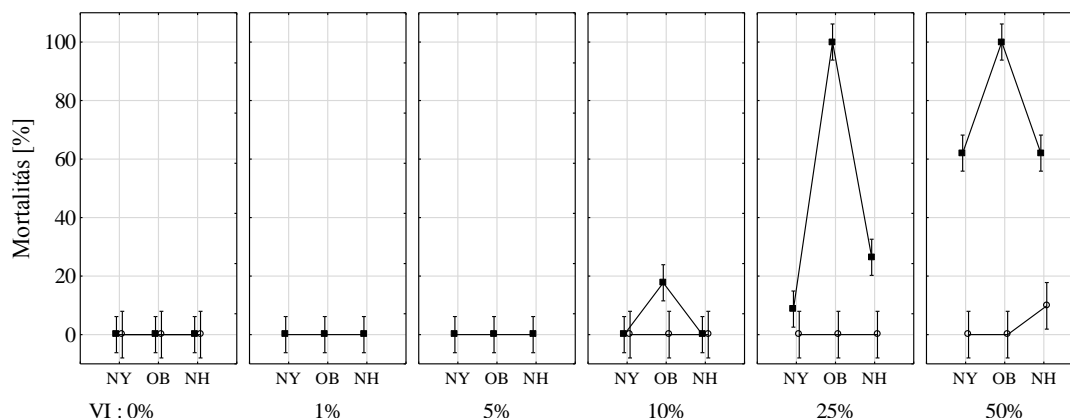
Az állatok nem kedvelték a magasabb koncentrációkat. Mindhárom vizsgált talaj esetén az állatok teljes mértékben (100%) elutasították a nagy koncentrációkat ($G \geq 25\%$; $T \geq 10\%$).

A *D. veneta* teszt fajjal szemben a közönséges televényferegek (*E. albidus*) érzékenyebbek bizonyultak a vörösiszap hatására, hiszen ahogyan az a 10. ábrán tapasztaltam letális hatást a vörösiszap talajba keverésekor. Az *F-próba* értékei alapján a legerősebben meghatározó faktor a vörösiszap típusa volt. Emellett erősen érvényesült a (vörösiszap) koncentráció, illetve ennek a két faktornak az együttes hatása (25. táblázat).

25. táblázat – A közönséges televényfereg (*E. albidus*) túlélését befolyásoló faktorok és azok közötti kölcsönhatások

	SS	Szabadságfok	MS	F	p
Tengelymetszet	8233,51	1	8233,51	170,2	0,000
VI típus	21056,09	1	21056,09	435,3	0,000
Talajtípus	1874,25	2	937,12	19,4	0,000
Koncentráció	42168,80	5	8433,76	174,4	0,000
VI típus x Talajtípus	6406,39	2	3203,19	66,2	0,000
VI típus x Koncentráció	19241,73	3	6413,91	132,6	0,000
Talajtípus x Koncentráció	10276,59	10	1027,66	21,3	0,000
VI típus x Talajtípus x Koncentráció	5161,62	6	860,27	17,8	0,000
Hiba	4643,41	96	48,37		

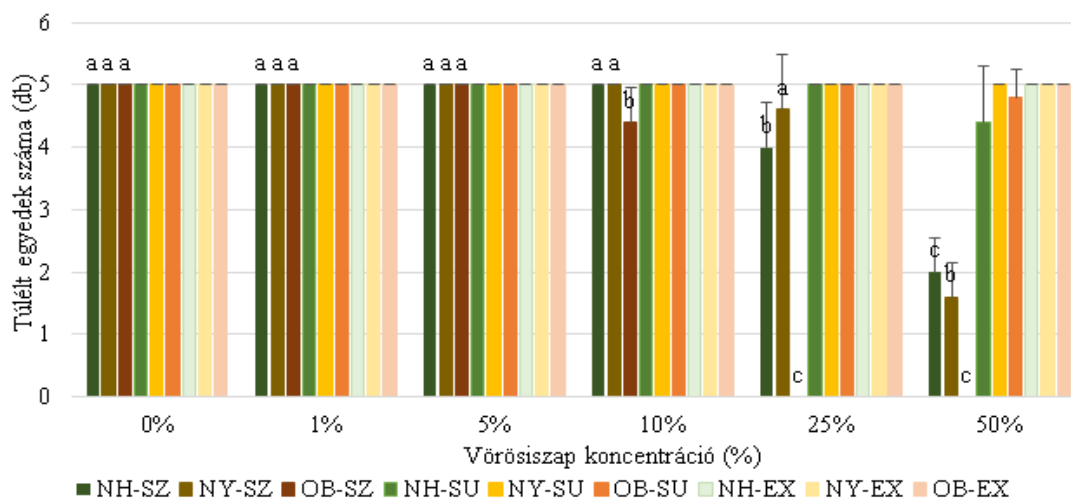
Ahogy a 10. ábrán is látszik, a teszt faj toleránsabb volt a gipsszel kezelt vörösiszapra, mint a kezeletlen típusra. A kis koncentrációknak (5% vagy annál kevesebb) egyik típus esetén sem volt modellezhető letális hatása. A neutrális homoktalaj (OB) esetén 10% kezeletlen vörösiszap koncentráció szignifikáns mértékben csökkentette az állatok túlélését.



10. ábra - Közönséges televényféreg (*E. albidus*) mortalitása a különböző koncentrációkban az illetett ANOVA modell alapján

Teli négyzet: kezeletlen vörösiszap, kör: gipsszel kezelt vörösiszap. A hibaszáv a modell által becsült konfidencia intervallumot ábrázolja

A másik két talajtípus (NH, NY) esetén a 25 és 50%-os koncentrációk hatottak szignifikánsan. A legnagyobb mértékű letális hatást a neutrális homoktalaj (OB) esetén nagy (25, 50%) koncentrációkban mértem. Az állatok ez esetben is egyöntetűen (100%) elutasították a 10%-os vagy annál nagyobb töménységű vörösiszap mintákat.



11. ábra- A kezeletlen vörösiszap különböző formáinak letális hatása a közönséges televényféreg (*E. albidus*) tesztfajra.

a betűk az ANOVA próba szerint szignifikánsan különböző csoportokat jelölik.

EX: extraktum, SU: szuszpenzió, SZ: szilárd forma. A hibaszáv a szórást ábrázolja

Egy másik vizsgálatból kiderült (11. ábra), hogy a kezeletlen vörösiszap szilárd formában, nagy koncentrációkban igen toxikus volt, amennyiben az anyagot szuszpenzióban, illetve

extraktumként vizsgáltam, az nem gyakorolt szignifikáns mértékű letális hatást az érzékenyebb tesztfajra (*E. albidus*).

4.3.3. A vörösiszap koncentrációk hatása a gyűrűsférgék mozgás-frekvenciájára

A 26. táblázat a mozgás megváltozását mutatja be. A táblázatban közölt adatok megerősítik a modelleknek azt a trendjét, hogy habár a koncentráció növelésével a legtöbb esetben növekedett mindkét vizsgált faj mozgásának intenzitása, a növekedés mértékét erősen befolyásolta mind a vörösiszap, mind a talaj típusa.

A mozgás intenzitásának relatív változását nézve (mindig az adott kontrollhoz viszonyítva) a két faj eltérően reagált a vörösiszap hozzáadásra. A *D. veneta* fajnál ez a növekedés a koncentráció növekedésével nőtt. Az *E. albidus* faj esetén a trend nem figyelhető meg ilyen egyértelműen, mivel az 5%-os koncentráció nagyobb növekedést okozott, mint a 10%.

26. táblázat- Átlagos stimulációs [%] (\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 két fajt együtt vizsgálva, a legtöbb esetben ez a relatív változás 10%-os vagy annál nagyobb koncentrációban vált igazán jelentőssé (> 20%).

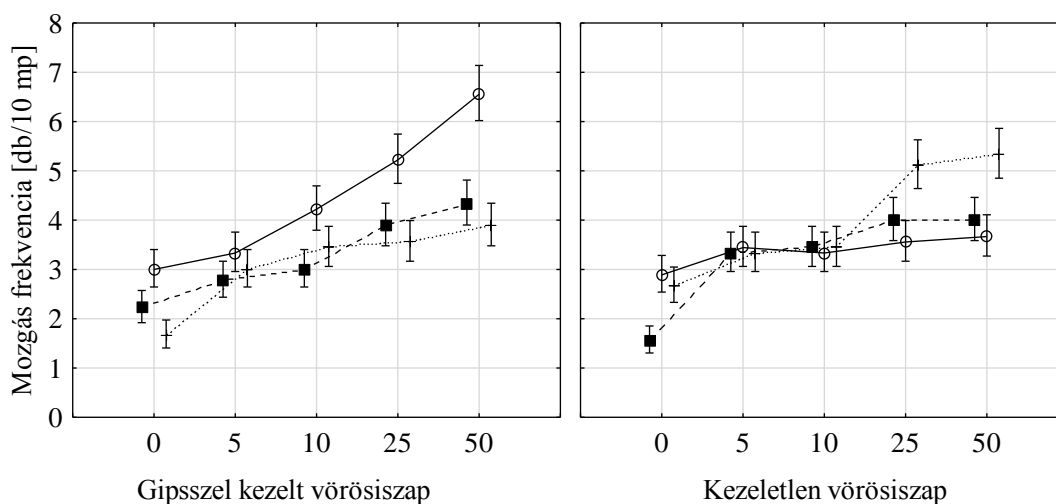
A nagyobb testméretű (*D. veneta*) teszt faj mozgását mind a vörösiszap típusa és mennyisége, mind pedig a talaj eredeti tulajdonságai és ezek kölcsönhatásai is szignifikáns mértékben befolyásolták (27. táblázat).

Általános trendként megállapítható volt, hogy a vörösiszap hozzáadása minden esetben stimulálta a *D. veneta* mozgását. A Chi-négyzet próbastatisztika értékei alapján a legerősebb hatás a koncentráció hatása volt, amelyet a talajtípus hatása kettős interakcióban és a talajtípus és a vörösiszap típus együttes befolyásoló hatása hármas interakcióban is módosítani tudott.

27. táblázat- A vörösiszap modellezhető (GLZ) hatása a *D. veneta* motilitására

	Szabadsági fok	Log-Likelihood	Chi-négyzet	p-érték
VI típus	1	1966,68	18,7	0,000
Talajtípus	2	1957,51	37,1	0,000
Koncentráció	4	1920,19	111,7	0,000
VI típus × Talajtípus	2	1961,98	28,2	0,000
VI típus × Koncentráció	4	1966,91	18,3	0,000
Talajtípus × Koncentráció	8	1947,59	56,9	0,000
VI típus × Talajtípus × Koncentráció	8	1945,33	61,4	0,000

A 12. ábrán látható modell által becsült értékek alapján, a kontroll talajok esetén a mozgás-frekvencia szignifikánsan különbözött. A legintenzívebb mozgást mindkét vörösiszappal végzett kísérletben, a kontroll talajok esetén a neutrális homoktalajon (OB) lehetett mérni. A modell becslése szerint a két neutrális kémhatású talajban (NH, OB) akár 1,7-szer nagyobb volt a mozgás intenzitása, mint a savanyú homoktalaj (NY) esetén.



12. ábra – A GLZ modell által becsült átlagos mozgás az egyes kezeléseknél a *D. veneta* fajnál kereszt: NH, téli négyzet: NY, kör:OB. A hibaszó a modell által becsült konfidencia intervallumot ábrázolja

Habár a mozgásintenzitásának növekedése szignifikánsan függött a hozzáadott vörösiszap koncentrációtól, a két különböző kezelésű vörösiszap esetén a növekedés mértéke nem egyezett. Továbbá a különböző mintatalajokba keverve több esetben más mértékű változást okoztak az egyes vörösiszap koncentrációk.

A gipsszel kezelt vörösiszap esetén az 5%-os koncentrációban, a kezeletlen vörösiszap esetén az 5 és a 10%-os koncentrációkban nem volt statisztikailag kimutatható különbség a vizsgált mintatalajokban mérhető mozgás intenzitásokban.

Általános trendként elmondható, hogy a vörösiszap nagy koncentrációkban történő bekeverése a talajba stimulálta a közönséges televényféreg testfaj (*E. albidus*) mozgását.

A 28. táblázat eredményei azt mutatják, hogy a tesztorganizmusok mozgását mind a vörösiszap típusa és mennyisége, mind pedig a talaj eredeti tulajdonságai és ezek kölcsönhatásai is szignifikáns mértékben befolyásolták, mivel a $p < 0,05$ minden sorban.

Ugyan a p-érték alapján minden szignifikánsnak mutatkozik, de az adatok mennyisége miatt Chi-négyzet próbastatisztika értéke érzékenyebben mutatja a hatások egymáshoz képesti nagyságát. Mivel ez a talajtípusnál és a koncentrációnál a legnagyobb, így feltételezhetően ezek határozták meg a legjobban az állatok mozgásának megváltozását.

28. táblázat - GLZ vizsgálat eredményei az *E. albidus* faj mozgás-frekvencia vizsgálatánál

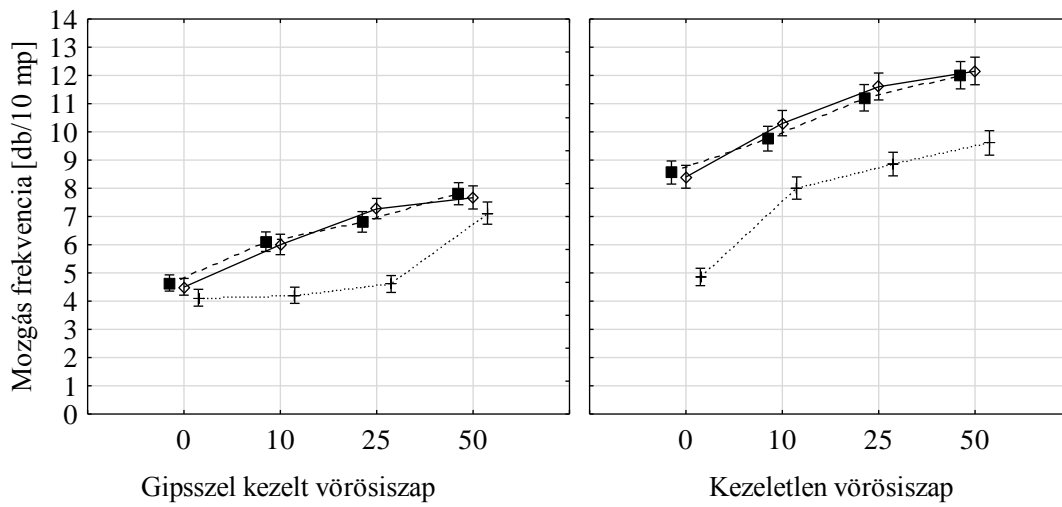
	Szabadságfok	Log-Likelihood	Chi-négyzet	p-érték
VI típus	1	37533,13	11,3	0,001
Talajtípus	2	37411,88	253,8	0,000
Koncentráció	3	37360,50	356,6	0,000
VI típus x Talajtípus	2	37507,76	62,1	0,000
VI típus x Koncentráció	3	37490,97	95,7	0,000
Talajtípus x Koncentráció	6	37503,99	69,6	0,000
VI típus x Talajtípus x Koncentráció	6	37492,38	92,8	0,000

A 13. ábrán az látszik, hogy a két homoktalajban (NY, OB) a tesztpopuláció mindkét kísérletben hasonló intenzitással mozgott. A két vörösiszap közül a kezeletlen stimulálta nagyobb mértékben a tesztállatok mozgását. Ha referencia szintnek a vályogtalajban (NH-K) mérhető mozgást választjuk, akkor a gipszes kezelés hatására a vörösiszap 0,85-ször kisebb mozgás változást stimulál, mint a kezeletlen minta hozzáadása.

A végpont vizsgálatok erősen érvényesül a talaj pufferhatása. Mindkét vörösiszap esetén a vályogtalajnak (NH) volt a legerősebb pufferhatása. A gipsszel kezelt vörösiszapnak a vizsgált vályogtalajba keverve csak a legnagyobb (50%) koncentrációjú mintában lesz statisztikailag mérhető mértékű mozgás intenzitás növekedése.

A két homoktalaj (NY, OB) esetén mind a gipsszel kezelt-, mind a kezeletlen vörösiszap hasonló trendű koncentráció arányos növekedést okozott. Amennyiben a savanyú homoktalaj

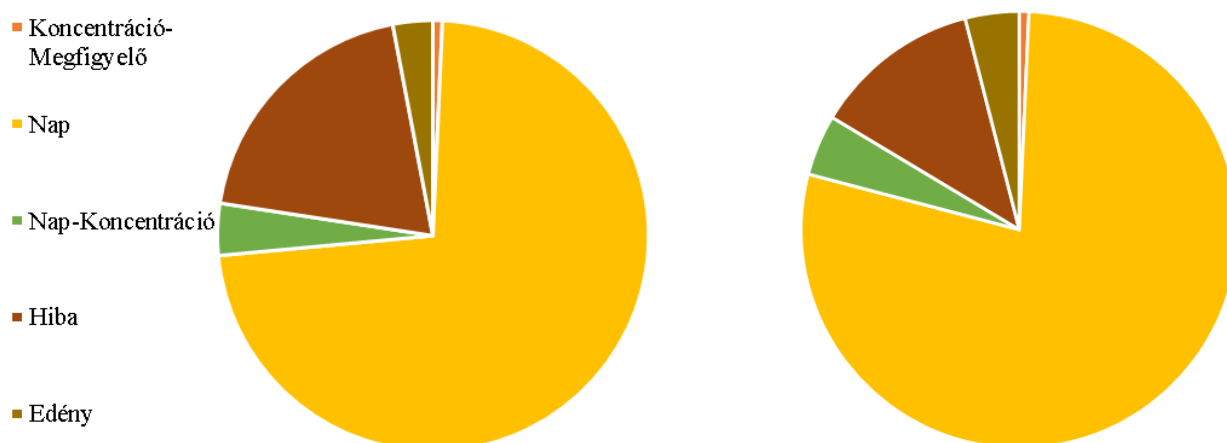
(NY-K) mintában mért értéket választjuk referencia szintnek, a vörösiszap hozzáadás a talajhoz akár 1,76-szor nagyobb intenzitású mozgást tud kiváltani.



13. ábra- A GLZ modell által becsült átlagos mozgás az egyes kezelések esetén az *E. albidus* fajnál kereszt: NH, teli négyzet: NY, kör: OB. A hibásáv a modell által becsült konfidencia intervallumot

4.4. Teszt fejlesztéshez kapcsolódó eredmények átfogó értékelése

A mozgás-frekvencia tesztfejlesztéshez elvégzett kísérleti eredmények elemzésénél azt találtam, hogy ez a végpont alapvetően kellő precizitással ismételtető volt, azonban a mérés eredményét az alap hibatarag mellett biztosan befolyásolta a mérési nap, ezáltal az alapsokaság aktuális érzékenysége és állapota (14. ábra).



14. ábra- Teljes szórás megoszlása a különböző mérési idők esetén [%]

A megfigyelő személye a precizitás (ismételhetőség és reprodukálhatóság) vonatkozásában nem okozott jelentős többletingadozást, tehát statisztikai értelemben nem befolyásolta az eredményeket. A fizikailag különböző tesztedények által generált hibatarag egy nagyságrenddel kisebb volt, mint a mérés alapvető precizitása.

A réz-szulfát kontroll anyaggal végzett mérések során a mérhető mozgás-frekvencia szigmoid-szerű görbét rajzolt ki, amelynek volt közel lineáris szakasza is. A két különböző mérési idő (10 és 20 mp) használata nem változtatta meg a mérés eredményét. A hosszabb mérési idő alkalmazásával nem lehetett tovább növelni a mérés precizitását, sőt rontotta a teszt alkalmazhatóságát.

A mérések során megerősítettük azt a szakirodalomból ismert tény, hogy a mozgás-frekvencia a testmérettől is függ (Keudel és Schrader, 1999; Quillin, 1999; Ruiz és Or, 2018), valamint azt is, hogy az ökotoxikológiai mérések során az élő szervezetekkel való munka korlátozza, hogy milyen mértékű precizitással kivitelezhetőek a mérések (OECD, 2006). Az általunk kalkulált becslésekben az edény és a belefoglalt hibataragok, azt is meg próbálják számszerűsíteni, hogy mennyire erősen képes ez a többletingadozás a mért tesztrendszerben érvényesülni.

Habár a 10 mp mérési idővel ökotoxikológiai szempontból is megfelelő módon adaptálható (alkalmazható) és 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.

Mindent egybevetve, a rövidebb (10 mp) mérési idő pontossága a varianciaanalízis eredménye szerint jobb volt.

4.5. A hígítatlan vörösiszap minták vizsgálati eredményeinek értékelése

Ahogy az a szakirodalmi adatokból is ismert tény, a gipsszel való kezelés szignifikáns mértékben csökkentette a vörösiszap toxicitását és a mérhető pH értékét (Courtney és Kirwan, 2012; Kong és mtsai. 2017; Bray és mtsai. 2018).

A vörösiszap jellemzően oxid formában tartalmazza az elemeket, mint pl. nikkel, kobalt (Power és mtsai. 2011), amely formák általában nem toxikusak. A nikkel ion (Ni^{2+}) formában felvehető és toxikus (Buxton és mtsai. 2019). A kobalt esetén toxicitása csak az oldott formáknak van (Tömösy, 2004), de a szakirodalom szerint a vörösiszap esetén ez nem tipikus (Power és mtsai. 2011). Az előzőekben ismertetettek szerint a fémek közül az arzén, króm, és vanádium tartalom adott okot az aggodalomra, így a koncentrációk esetén csak ezeket vizsgáltam.

Szintén alátámasztja az eredményeket az a szakirodalmi adat is, hogy az eltérő tulajdonságú vörösiszapok más mértékű hatást gyakorolnak a gyűrűsférgekre (Hackenberger és mtsai. 2019). Mindkét vörösiszap hatással volt az állatok túlélésére, azonban a hatás mértéke nem volt egyforma. A gipsszel kezelt vörösiszap kevésbé volt toxikus.

Mindkét vörösiszap szubletálisan is hatott az állatokra. A vörösiszappal való találkozás megváltoztatta az állatok perisztaltikus mozgásának sebességét. Mindkét vizsgált faj elutasította a vörösiszapot élőhelyként (ezáltal nem a teljes testfelületükön át történt az expozíció).

4.6. A vörösiszap, mint talajjavító adalékanyag (koncentrációk) vizsgálati eredményeinek értékelése

A vörösiszap általam elvégzett toxicitási vonatkozású vizsgálatait az alábbi (31.) táblázat foglalja össze:

31. táblázat - Ökotoxikológiai szempontból elfogadható mért koncentrációk

Kritérium, amely szerint elfogadható		Legnagyobb vizsgált elfogadható koncentráció					
		NH		NY		OB	
		T	G	T	G	T	G
pH	max 7,8	K	K	5	10	K	1
Teljes elemtartalom	határérték alatt	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	<2,5	1

A két típusú vörösiszap más módon hatott a talajokban (Carter és mtsai. 2008; Liu és mtsai. 2009; Gräfe és mtsai. 2011; Xue és mtsai. 2016). A gipsszel kezelt vörösiszap volt kevésbé toxikus hatású.

A vörösiszap talajba keverve emelte a kémhatást, hasonlóan mások eredményeihez (Summer és Pech, 1997; Snars és mtsai. 2004; Ujaczki és mtsai. 2016). Az eredendően semleges, illetve enyhén lúgos (NH, OB) kémhatású talajok esetén már kismértékű vörösiszap hozzáadás sem volt kívánatos a kémhatás megváltozásának szempontjából. A savanyú homoktalaj esetén a kisebb (T: ≤5% G: ≤10%) koncentrációkban pozitív hatása volt a vörösiszap hozzáadásnak, hiszen úgy növelte a pH-t és a víztartó képességet, hogy közben nem volt toxikus hatása a vizsgált tesztfajokra.

A víztartó képesség növekedése az élőhely funkciót jellemzően előnyösen befolyásolja. Emellett a növelése ritkán toxikus a talajlakó állatok számára, hiszen ez csupán egy potenciál, nem azonos a talaj valódi víztartalmával. A vörösiszap talajhoz való keverése ebben az esetben is szignifikáns mértékben növelte az eredeti talaj víztartóképességét, hasonlóan Banning és mtsai. (2014), Fergusson (2014) és Ujaczki és mtsai. (20016) eredményeihez, amely ezen esetben pozitív hatású volt.

Még a legnagyobb koncentrációk is megközelítően 10-30% víztartóképesség növekedést okoztak. A növekedés mértéke eltérő volt a különböző talajokban. A két vizsgált gyűrűsféreg faj szempontjából ez feltételezhetően nem okozhat toxikus hatást. Még amennyiben ezek teljesen telítődnének, a tesztfajok képesek lennének ezt a víztartalmat tolerálni (Gräfe és Schmelz, 1999; Jansch és mtsai. 2005; Smith és Stringfellow, 2010).

Fém tartalom szempontjából a talajok eredeti fémtartalma nagy mértékben befolyásolja azt, hogy milyen mértékű vörösiszap hozzáadásnak van potenciális kockázata.

A vályogtalaj (NH) fémtartalma olyan magas volt, hogy a legkisebb általam vizsgált koncentráció esetén is határértéket meghaladó koncentrációban voltak jelen a vizsgált elemek. A két homoktalaj (NY, OB) esetén az 5%-os koncentrációnak nem volt kockázata ebből a szempontból.

Ugyan a környezeti kockázatbecslési eljárásokban jellemzően a földigiliszta fajok vizsgálata elterjedtebb (Pandard és mtsai. 2006), úgy találtam, hogy ez a taxon nem a rendszertani csoport legérzékenyebb képviselője. Ebben a vizsgálatban a közönséges televényféreg (*E. albidus*) faj érzékenyebb a bemutatott eredmények alapján érzékenyebb volt.

A két faj érzékenységbeli eltérésének legfőbb oka véleményem szerint az eltérő testméret és ezáltal azonos koncentrációk esetén az eltérő dózis, ezért történhetett meg, hogy míg a *D. veneta* teszt faj esetén nem volt a koncentrációknak mérhető mértékű letális hatása, addig a közönséges televényféreg (*E. albidus*) populációnál ki tudtam mutatni letális hatást.

A vizsgált koncentrációknak (0-50%) nem volt letális hatása a nagyobb testméretű (*Dendrobaena veneta*) teszt fajra, amely eredmény összhangban van Maddock és munkatársai (2005) eredményeivel. Azonban az eredmény 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 (LC_{50}) szerint az arzén 72-210 mg/kg-os koncentrációban már a populáció felét elpusztítja (Lock és Janssen, 2002). Mivel csak egy kezelésben (OB-G 50%) volt határérték hatszorosánál is több az arzén tartalom (>72mg/kg), de toxicitás több esetben is mérhető volt, így feltételezhetően ez az elem (önmagában) nem okozta a mért toxikus hatást. A króm (IV) a természetben viszonylag gyorsan króm (III) formájává alakul. Az állatok a króm (III) terhelésre igen toleránsak (Somogyi és mtsai. 2004) annak koncentrációval arányos mennyiségi növekedése ellenére sem valószínű, hogy önmagában ez okozta a mortalitást. Fémek ilyen összetett kombinációja által gyakorolt koktéllhatást még nem publikáltak, így ez nem zárható ki.

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). Más források szerint a televényféreg-fajok rövid távon akár a 9-es kémhatást is képesek elviselni (Jänsch és mtsai. 2005), amely összhangban van Gräfe és Schmelz (1999) eredményeivel, amely szerint a faj mind az enyhén lúgos, mind az enyhén savas talajkémhatást képes tolerálni.

Figyelembe véve ezeket az adatokat, és azt a tényt, hogy a vanádium a szignifikáns mértékű mortalitást okozó koncentrációk esetén egy kivételével (OB: 25%) határérték felett volt, feltételezhető, hogy a felsorolt tényezőknek (pH és/vagy vanádiumtartalom) szerepet játszanak a toxikus hatásban.

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), feltételezhető, hogy ez az általam vizsgált tesztfajra is igaz. Ebből az következik, hogy a *D. veneta* tesztfaj esetén a pH változás önmagában nem lett volna toxikus a tesztfajra.

Szubletális úton már nem csak a közönséges televényférgerekre (*E. albidus*), hanem a nagyobb testű (*D. veneta*) tesztfajra is hatással volt a vörösiszap. Ez összhangban van számos más, az Irodalmi áttekintés során bemutatott eredménnyel (Hackenberger és mtsai. 2019; Di Carlo és mtsai. 2020).

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 Finngéan 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 gyűrűsférgék viselkedését (Ruiz és Or, 2018).

A bemutatott eredmények és a szakirodalmi adatok alapján azt a következtetést lehet levonni, hogy habár a vörösiszap toxikus hatása koncentrációfüggő, még kis koncentrációk sem alkalmazhatóak egyértelműen minden talaj esetén. A talajjavításra való felhasználás során figyelembe kell venni, hogy milyen típusú vörösiszapot, milyen koncentrációban, milyen tulajdonságú (kémhatású és fémterhelésű) talaj esetén tervezünk felhasználni.

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 gyűrűsférgék számára meghatározó tulajdonságain, így jobb élőhelyet biztosítva az állatoknak.

5. Javaslatok, 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 módszer jövőbeli szabványosításának esetleges lehetőségét csak további elvégzett kísérleti eredmények az Irodalmi áttekintés 2.2. alfejezetében bemutatott szempontok szerint történő értékelése után lehet mérlegelni.

Annak ellenére, hogy a mozgás-frekvencia vizsgálat ebben az esetben jól beilleszthető volt a szabványprotokollba (OECD 207 és 220), a körtesztek elvégzése mellett fontosnak tartom, hogy a vizsgálati nap (alapsokaság állapota) hatását jobban felderítsük. 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 ismételhetséget.

Figyelembe véve az Eredmények és a Szakirodalmi áttekintés fejezetekben bemutatott információkat, a vörösiszap talajjavító anyagként való használatával nem csak ennek a hulladéknak a mennyiségét tudjuk csökkenteni, hanem a savanyú és/vagy rossz vízháztartású talajok tulajdonságait is javíthatjuk.

A gyakorlati alkalmazás megkezdése előtt mindenképpen szükséges megvizsgálni néhány további kérdést. Fontos lenne például tisztázni, hogy a vörösiszap pH növelő hatása a talajokban milyen hosszú távon és meddig érvényesül. Idővel a hatás mértéke csökken-e, illetve befolyásolják-e a kémhatás változásokat egyéb környezeti faktorok (pl. savas légköri csapadék). Ennek vizsgálatára hosszú távú (több éves) szabadföldi kísérleteket javaslok, ahol a vörösiszapot az aktuális, ismert kitétségszerű talaj szerint javasolt koncentrációban bekeverve láthatnánk a hosszútávú változásokat is.

A szakirodalomban leírtak és az általam bemutatott eredmények alapján a fémtartalom által képviselt potenciális toxikus hatást mindenképpen szükséges megvizsgálni. 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 jelenleg használt elemtartalom mérési módszer (röntgen fluoreszcensz spektrometria) korlátja, hogy nem ad információt sem az elemek formáiról, sem annak felvehetőségéről. Annak ellenére, hogy számos elem az irodalom szerint nem toxikus formában, illetve a megengedett határértéknél kisebb mennyiségben volt jelen, a vörösiszap magas elemtartalma potenciális veszélyt hordozhat. Így ezen részletek tisztázását szükségesnek vélem.

A kockázat megértéséhez kiemelt jelentőségűnek tartom a fémek komplexének együttes hatását felderíteni a vizsgált tesztfajok esetén. Emellett specifikálni kellene, hogy egyes potenciálisan toxikus elem (pl.: króm) pontosan milyen kémiai formában van jelen.

Fontos lenne felderíteni, hogy a teljes mérhető fémtartalom mely elemei vannak felvehető formában. Ehhez desztillált vizes, modell csapadékvizes vagy enyhe szerves savas feltárás (gyökérsavak utáncázására) után analitikai vizsgálatok elvégzését javaslom.

Kíváncsún tartom körüljárni azt a kérdést, hogy a hígítatlan vörösiszap minták nagyobb testméretű (*D. veneta*) tesztfajjal történő tesztelésekor, a mortalitási tesztben tapasztalható nagy szórásnak mi az oka. Hipotézisem szerint az adult állatok eltérő testmérete okozza. Annak ellenére, hogy ezt a szabvány bizonyos mértékben szabályozza (elvárt súly: 300-600 mg/állat), ez a széles értéktartomány akár kétszer akkora dózist is jelenthet az egyes állatok között. A feltételezést, hogy a mérhető toxicitás a testmérettel és így a környezeti koncentráció helyett a testben mérhető dózissal összefügg, elengedhetetlen lenne további tesztekkel igazolni.

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 nátriumhidroxid 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 nátriumhidroxid kivonhatta az állatok kutikulájából a vizet, azonban 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 oldószerrel 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.

A magas fémtartalom miatt elengedhetetlennek gondolom környezeti kockázatbecslési eljárásokkal felderíteni a vörösiszappal javított talajokban jelenlévő fémek potenciális hatásait, illetve modellezni azt, hogy az egyes nem mérgező formák (pl. higany, kobalt) a különböző fizikai, kémiai és biológiai hatásokra képesek-e toxikussá válni (pl. ionizációval, kiporzással, bakteriális metilációval). A fémeket nem csak önmagunkban, hanem komplexként (egymással és más szennyezőkkel) is szükséges megvizsgálni.

Habár önmagában nézve a víztartókéesség növekedés előnyös, az elsavanyodó homoktalajok javítása előtt szükségesnek tartom tisztázni azt, hogy a természetes szárazságtűrő szukcessziót hogyan befolyásolja a megnövekedett mértékű vízkapacitás. Természetes állapotú élőhelyek javításakor különösen fontosnak gondolom, hogy a vízkapacitás növelés közben bekövetkező pH változás ne támogassa idegenhonos fajok betelepülését.

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 tesztfajok (pl. K-stratégista fonálféreg, ugróvillások, egyes csiga és pókfajok) toleranciáját felmérjük.

A jelenlegi adatok alapján úgy tűnik, hogy a potenciális toxicitást az általam vizsgált fajok esetén a vörösiszappal vagy a pH és a talaj interakciója vagy a vanádium tartalom hordozhatja. Mivel jelenleg a vanádium toxicitásának kapcsán csak egy másik televényféreg (*E. crypticus*) faj esetén csupán a nanoformáról áll publikált adat a rendelkezésre (Barreto és mtsai. 2021), a televényféreg érzékenységének tisztázásához a nagyszemcsés forma (és fémkomplex) potenciális toxikus hatásainak felmérése kell. 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).

Még, ha az előbbieken felsorolt további információk alapján a vörösiszap valóban egy széleskörűen felhasználható talajjavító anyag lehetne, fontosnak gondolom az egyes eseteket külön-külön megvizsgálni. Ennek oka, hogy a szakirodalmi áttekintésben és a munkámban bemutatott eredmények alapján is az látszik, hogy az egyes vörösiszap kezelések a különböző talajokban eltérő hatással rendelkeznek.

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 érzékenységek 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.

6. Új tudományos eredmények (tézisek) bemutatása

Az egyes tézisértékű eredményekhez kapcsolható publikációk jegyzékét a Mellékletek-M6. melléklete sorolja fel.

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 ismételhető-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.

Ökotoxikológiai célkitűzések:

II.1. Meg kívántam vizsgálni azt, hogy a vörösiszap talajba történő adagolásával azok fizikai és kémiai tulajdonságai (kémhatás, víztartóképesség, fémtartalom) 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 (nagyhőrsöki) talaj esetén nem volt javasolt az alkalmazása. Lúgos talajok esetén (nagyhőrsöki és őrbottyáni) a potenciális előnyök mellett (pl. víztartóképesség növelés, mikrotápanyag-pótlás) fontos figyelembe venni a kémhatás növeléséből származó kockázatot. Savanyú homoktalaj (nyírlugosi) esetén az anyag viszonylag kis koncentrációban (max. 5%) jól alkalmazható. Az általam vizsgált savanyú talajban, a kis koncentráció a szélsőséges pH-t emelte, a víztartó képességet növelte.

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. Kivonatban 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.

7. Összefoglalás

Annak ellenére, hogy a vörösiszap mind ipari újrahasznosítása (Klauber és mtsai. 2011), mind mezőgazdaságban történő felhasználása (Kunhikrishnan és mtsai. 2016; Ujaczki és mtsai. 2016) megoldható lenne, a mai napig egy olyan kihasználatlan erőforrás, amelynek tárolókban történő depózása potenciális környezeti veszélyt hordoz magában (Power és mtsai. 2011).

A szakirodalomban közölt információk alapján a vörösiszap egy új, olcsó talajjavítóanyag lehetne savanyú és rossz vízgazdálkodású talajok esetén, így a munkám során célul tűztem ki, hogy felmérjem az anyag gyűrűsféregre gyakorolt potenciális akut ökotoxikológiai hatását.

A vizsgálatokat két gyűrűsféreg tesztfajjal (*Dendrobaena veneta* és *Enchytraeus albidus*) végeztem el. A vizsgálatok során két hígítatlan vörösiszapot (kezeletlen és 2% gipsszel semlegesített) és azok talajba kevert koncentrációt (1-50%) vizsgáltam.

Mind a vörösiszapok, mind a koncentrációk esetén megmértem azok egyes fizikai-kémiai jellemzőit (pH, víztartókéesség, teljes elemtartalom), valamint akut letális és szubletális tesztekkel végeztem el. A mortalitás mellett, mindkét teszt faj esetén vizsgáltam az állatok mozgásának megváltozását.

Relevánsabb eredmények elérése érdekében a módszert úgy optimalizáltam és egészítettem ki, hogy jobban modellezze az állatok aktív élőhelykolonizációs illetve elhagyó viselkedését. Az új kiegészítő végpont (perisztaltikus mozgás-frekvencia megváltozás) vizsgálatának módszerét Gage R&R módszerrel értékeltem. Az eredményeim alapján a mozgás-frekvencia vizsgálati végpont a meglévő tesztmódszerbe integrálva jól alkalmazható.

Míg mindkét típusú tömény vörösiszap toxikus volt, a koncentrációk toxicitása erősen függött a vörösiszap és a talaj típusától. Az eredményeim alapján a neutrális talajokba keverve nem tapasztaltam előnyös hatást. Savanyú (homok) talajba keverve a kis koncentrációk <5% talajjavító hatással bírhattak, ezáltal a talaj élőhelyként a vizsgált két gyűrűsféreg faj számára alkalmasabbá vált.

A fent leírtak alapján az a véleményem, hogy a vörösiszap, mint potenciális talajjavító anyag lehetséges előnyös hatásainak további vizsgálata savanyú (és rossz vízgazdálkodású) homoktalajok esetén indokolt, mivel ezzel nem csak az elsavasodás problémáját kezeljük, hanem egy hulladék semlegesítését és újra hasznosítását is környezeti kockázat nélkül megoldanánk.

8. Summary

Even though the recycling of bauxite residue, both industrial (Klauber és mtsai. 2011) and agricultural-way may be solved (Kunhikrishnan és mtsai. 2016; Ujaczki és mtsai. 2016), to this date, an unused resource whose depositing in containers carry a potential environmental risk.

According to the information provided in the literature, the bauxite residue could be a new, inexpensive soil ameliorant-material for acidic soils (with insufficient water management), so I aimed to assess the potential acute ecotoxicological effects of the substance on ringworms in my work.

The experiences were made with two ringworm test species (*Dendrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus*). During the experiences, I examined two undiluted bauxite residues (untreated and 2% gypsum neutralized) and the concentrations (1-50%) into the soil.

In the case of both types of bauxite residue and their concentrations, I measured some of the physical-chemical parameters, and acute lethal and sublethal tests were carried out. In addition to the mortality, I examined the motion-changes of both the test species and the soil preference (or avoidance) behaviour of *E. albidus*.

In order to achieve more relevant results, the method was optimized and supplemented to model more accurately the active habitat-colonization or escape behaviour of animals. The method of examining the new, additional endpoint (peristaltic motion-frequency changes) was evaluated by Gage R&R method. Based on my results, the motion-frequency examining endpoint was a well adaptable method to integrate into the available test guide.

In spite of that, both types of undiluted bauxite residue were toxic. The toxic effect of the concentrations was heavily dependent on the type of the bauxite residue and soil. According to my results, in neutral soil had mixing of bauxite residue any beneficial effect. In acidic (sandy) soil, might the lower concentrations (<5%) have a soil amendment effect, so the soil as habitat became more appropriate to the two examined annelid species.

Due to the above-mentioned facts, I recommend the investigation of the further positive effects of the bauxite residue as potential soil ameliorant material is adequate by acidic soils (with insufficient water management), as this might not only address the issue of acidification but also solve a neutralization and recycling of waste without any environmental risk.

M1- Irodalomjegyzék

1. Aldaya, M.M., Lors, C., Samon, S., Ponge, J. F. (2006): Avoidance bio-assays may help to test the ecological significance of soil pollution. *Environmental Pollution* 140: 173-180. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.06.011
2. Amorim, M., Novais, S., Römbke, J., Soares, A.M.V.M. (2008a): Avoidance test with *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae): Effects of different exposure time and soil properties. *Environmental Pollution* 115(1): 112-116. DOI: 10.1016/j.envpol.2007.10.028
3. Amorim, M.J.B., Scott-Fordsmann, J.J. (2012): Toxicity of copper nanoparticles and CuCl₂ salt to *Enchytraeus albidus* worms: Survival, reproduction and avoidance responses. *Environmental Pollution* 164: 164-168. DOI: 10.1016/j.envpol.2012.01.015
4. Amorim, M.J.B.; Novais, S.; Römbke, J.; Soraes, A.M.V.M. (2008b): *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae): A test organism in a standardised avoidance test? Effects of different chemical substances. *Environmental International* 34(3): 363-371. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.08.010>
5. 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
6. Arzberger, P., Schroeder, P., Beaulieu, A., Bowker, G., Casey, K., Laaksonen, L., Moorman, D., Uhler, P., Wouters, P. (2004): An international framework to promote access to data. *Science* 303:1777-1778. DOI:10.1126/science.1095958
7. ASTM E1676 – 12: Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm *Eisenia Fetida* and the Enchytraeid Potworm *Enchytraeus albidus*. ASTM International, 2021 <https://www.astm.org/e1676-04.html>
8. AIAG (Automotive Industry Task Force) (2010): Measurement System Analysis, Reference Manual Retrieved http://www.rubymetrology.com/add_help_doc/MSA_Reference_Manual_4th_Edition.pdf (2022. január 4.)
9. Bakonyi, G., Seres, A., Répási, V., Juriková, T., Szekeres, L., Balla, I. (2009): Új irányok a talajállatok ökotoxikológiájában. *Állattani Közlemények* 94: 3-17. https://www.researchgate.net/publication/235408177_Uj_iranyok_a_talajallatok_okotoxikologiajaban
10. Bakonyi, G. (szerk.) (2003): *Állattan*. Mezőgazda Kiadó, Gödöllő. ISBN: 9632860446

11. Banning, N., Sawada, Y., Phillips, I.R., Murphy, D.V. (2014): Amendment of bauxite residue sand can alleviate constraints to plant establishment and nutrient cycling capacity in a water-limited environment. *Ecological Engineering* 62: 179-187. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.034>
12. Barreto, A.; Santos, J.; Amorim, M.J.B.; Maria, V.L. (2021) Environmental hazards of boron and vanadium nanoparticles in the terrestrial ecosystem—A case study with *Enchytraeus crypticus*. *Nanomaterials* 11(8):2937 (online) <https://doi.org/10.3390/nano11081937>
13. Bertocchi, A. F., Ghiani, M., Peretti, R., Zucca, A. (2006): Red mud and fly ash for remediation of mine sites contaminated with As, Cd, Cu, Pb and Zn. *Journal of Hazardous Materials* 134(1-2): 112-119. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.10.043
14. Blackman, R., Wilson, K.W. (1973): Effects of red mud on marine animals. *Marine Pollution Bulletin* 4:169-171. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(73\)90177-X](https://doi.org/10.1016/0025-326X(73)90177-X)
15. Borrelli, P., Robinson, D.A., Fleischer, L. R., Lugato, E., Ballabio, C., Alewell, C., Meusburger, K., Modugno, S., Schütt, B., Ferro, V., Bagarello, V., Van Oost, K., Montanarella, L., Panagos, P. (2017): An assessment of the global impact of 21st century land use change on soil erosion. *Nature Communications* 8: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02142-7>
16. Boulin, M., Hodson, M.E., Delgado, E.A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K.R., Dai, J., Dendooven, L., Peresi, G., Tondoh, J.E., Cluzeau, D., Brun, J-J. (2013): A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science* 64(2):161-182. doi: 10.1111/ejss.12025
17. Bray, A.W., Stewart, D.I., Courtney, R., Rout, S.P., Humphreys, P.N., Mayes, W.M., Burke, I.T. (2018): Sustained bauxite residue rehabilitation with gypsum and organic matter 16 years after initial treatment. *Environmental Science and Technology* 52: 152-161. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03568>
18. Brunori, C., Cremisini, C., Massanisso, P., Pinto, V., Torricelli, L. (2005): Reuse of a treated red mud bauxite waste: studies on environmental compatibility. *Journal of Hazardous Materials* 117(1): 55-63 doi:10.1016/j.jhazmat.2004.09.010
19. Burke, I.T., Peacock, C.L., Lockwood, C.L., Stewart, D.I., Mortimer, R.J.G., Ward, M.B., Renforth, P., Gruiz, K., Mayes, W.M. (2013): Behavior of aluminum, arsenic, and vanadium during the neutralization of red mud leachate by HCl, gypsum or seawater. *Environmental Science and Technology* 47 (12): 6527-3535. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03568>

20. Buxton, S., Garman, E., Heim, K. E., Lyons-Darden, T., Schlekat, C. E., Taylor, M. D., Oller, A. R. (2019): Concise review of nickel human health toxicology and ecotoxicology. *Inorganics* 89(7): online. doi:10.3390/inorganics7070089
21. Calow, P. (1997): 1: General Principles and Overview (1-5pp) in *Handbook in Ecotoxicology*. Blackwell Science Ltd
22. Cardoso, E. J. B. N., Alves, P. R. L. (2012): Soil ecotoxicology in ecotoxicology <https://www.intechopen.com/chapters/27521> 2021. január 4.
23. Carter, C.M., van der Sloot, H.A., Cooling, D., van Zoomeren, A., Matheson, T. (2008): Characterization of untreated and neutralized bauxite residue for improved waste management. *Environmental Engineering Science* 52(4): 475-488. <https://doi.org/10.1089/ees.2006.0234>
24. Cassey, P., Blackburn, T.M. (2006): Reproducibility and repetability in ecology. *Bioscience* 56(12): 958-959. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2006\)56\[958:RARIE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)56[958:RARIE]2.0.CO;2)
25. Castaldi, P., Melis, P., Silvetti, M., Deiana, P., Garau, G. (2009): Influence of pea and wheat growth on Pb, Cd, and Zn mobility and soil biological status in a polluted amended soil. *Geoderma* 151:241-248. doi:10.1016/j.geoderma.2009.04.009
26. Channarayappa, C., Birardar, D. P. (2019): Soil basics, management and rhizosphere. *Engineering for Sustainable Agriculture*. Taylor & Francis Group Kiadó, LLC
27. 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>
28. Coleman, D.C., Wall, D.H. (2015): *Soil Micorbiology, Ecology and Biochemistry*. Elsevier Kiadó, ISBN 9781138486928
29. CEC (Commission of the European Communities) (2006): Communication from the comission to the council, the european parliament, the european economic and social committee and the committee of the regions. Thematic strategy for soil protection. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:52012DC0673:EN:NOT> 2021.január 4.
30. Coruh, S., Ergun, O. N. (2010): Use of fly ash, phosphogypsum and red mud as a liner material for the disposal of hazardous zinc leach residue waste. *Journal of Hazardous Materials* 173: 468-473. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.08.108

31. Courtney, R. G., Timpson, J.P. (2005): Reclamation of fine fraction bauxite processing residue (red mud) amended with coarse fraction residue and gypsum. *Water, Air and Soil Pollutions* 164:91-102. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-005-2251-0>
32. 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
33. Courtney, R., Feeney, E., O'grady, A.O. (2014): An ecological assessment of rehabilitated bauxite residue. *Ecological Engineering* 73: 373-379. DOI:10.1016/j.ecoleng.2014.09.064
34. Courtney, R., Kirwan, L. (2012): Gypsum amendment of alkaline bauxite residue – Plant available aluminium and implications for grassland restoration. *Ecological Engineering* 42:279-282. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.02.025>
35. Courtney, R., O'Neill, N., Harrington, T., Breen, J. (2010): Macro-arthropod succession in grassland growing on bauxite residue. *Ecological Engineering* 6: 1666-1671. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.07.006>
36. Dentoni, V., Grosso, B., Massacci, G. (2014): Environmental Sustainability of the Alumina Industry in Western Europe. *Sustainability* 6: 9477-9493. doi:10.3390/su6129477
37. Di Carlo, E., Boullemant, 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>
38. Didden, W. (1991): Population ecology and functioning of Enchytraeidae in some arable farming systems. Doctoral thesis. Agricultural University, Wageningen (Hollandia). <https://edepot.wur.nl/202864> 2022. január 4.
39. Didden, W.A.M. (1993): Ecology of terrestrial enchytraeidae. *Pedobiologia* 37: 2-29.
40. Domene, X., Hanley, K., Enders, A., Lehmann, J. (2015): Short-term mesofauna responses to soil additions of corn stover biochar and the role of microbial biomass. *Applied Soil Ecology* 89: 10-17. DOI:10.1016/j.apsoil.2014.12.005
41. Edwards, C. A., Bohlen, P. J. (szerk.) (1995) *Biology and ecology of earthworms*. III. edition. Springer Kiadó, Netherlands. ISBN 9780412561603
42. Edwards, C.A., Bohlen, P.J. (szerk.) (1996): *Biology and Ecology of earthworms*. Chapman and Hall Inc. Kiadó, London. ISBN 9780412561603
43. 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.
44. EPA (1994): Using toxicity tests in ecological risk assessment. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-11/documents/v2no1.pdf> 2022. január 4.
 45. Erős, T., Takács, P., Czeglédi, I., Sály, P., Specziár, A. (2015): Taxonomic- and trait-based recolonization dynamics of a riverine fish assemblage following a large-scale human-mediated disturbance: the red mud disaster in Hungary. *Hydrobiologia* DOI 10.1007/s10750-015-2262-9
 46. EEA (European Environmental Agency) (2021a): EEA Glossary <https://www.eea.europa.eu/help/glossary/eea-glossary/ecotoxicology> 2021. január 4.
 47. EEA (European Environmental Agency) (2021b): Environmental Risk Assessment: Approaches, Experiences and Information Sources <https://www.eea.europa.eu/publications/GH-07-97-595-EN-C2/preface.pdf> 2021. január 4.
 48. EEA (European Environmental Agency) (2000): Down to earth: soil degradation and sustainable development in Europe: A challenge for the 21st century. https://www.eea.europa.eu/publications/Environmental_issue_series_16 2022. január 4.
 49. 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
 50. Feigl, V.; Anton, A.; Uzinger, N.; Gruiz, K. (2012): Red mud as a chemical stabilizer for soil contaminated with toxic metals. *Water, Air and Soil Pollution* 223(3): 1237-1247. DOI:10.1007/s11270-011-0940-4
 51. 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)
 52. 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/>
 53. Finnegan, 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

54. Fontainer, C., Biscara, L., Mamo, B., Delord, E. (2015): Deep-sea benthic foraminifera in an area around the Cassidaigne Canyon (NW Mediterranean) affected by bauxite discharges. *Marine Biodiversity* 45:371-382. DOI:10.1007/s12526-014-0281-9
55. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2015): Status of the World's Soil Resources: Main Report, Róma (Olaszország). <https://www.fao.org/documents/card/en/c/c6814873-efc3-41db-b7d3-2081a10ede50/> 2022 január 4.
56. Forrier, C., Luglia, M., Keller, C., Henneber, P., Foulon, J., Ambrosi, J-P., Angeletti, B., Criquet, S. (2021): How raw and gypsum modified bauxite residues affect seed germination, enzyme activities, and root development of *Sinapis alba*. *Water, Air and Soil Pollution* 232: 309 (online). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05232-x>
57. Fourrier, C., Luglia, M., Hennebert, P., Foulon, J., Ambrosi, J-P., Angeletti, B., Keller, C., Criquet, S.(2020): Effects of increasing concentrations of unamended and gypsum modified bauxite residues on soil microbial community functions and structure – a mesocosm study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 201: 110847 (Online) <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110847>
58. Garau, G., Castaldi, P., Santona, L., Deiana, P., Melis, P. (2007): Influence of red mud, zeolite and lime on heavy metal immobilization, culturable heterotrophic microbial populations and enzyme activities in a contaminated soil. *Geoderma* 142: 47-57. doi:10.1016/j.geoderma.2007.07.011
59. Garau, G., Silvetti, M., Castaldi, P., Mele, E., Deiana P., Deiana, S. (2014): Stabilising metal(loid)s in soil with iron and aluminium-based products: Microbial, biochemical and plant growth impact. *Journal of Environmental Management* 139: 146-153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.02.024>
60. Garau, G., Silvetti, M., Deiana, S., Deiana, P., Castaldi, P. (2011): Long-term influence of red mud on As mobility and soil physico-chemical and microbial parameters in a polluted sub-acidic soil. *Journal of Hazardous Materials* 185: 1241-1248. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.10.037
61. Gerger, Ö. G. (2021): Conducting a Gage R & R Study: An Application Example in Automotive Industry. *Journal of Economics and Social Research*. https://www.researchgate.net/profile/Atakan-Gerger/publication/349625419_Conducting_a_Gage_R_R_Study_An_Application_Example_in_Automotive_Industry/links/6038df04299bf1cc26f04a2d/Conducting-a-Gage-R-R-Study-An-Application-Example-in-Automotive-Industry.pdf

62. Gosh, I., Guha, S., Balasubramaniam, R., Kumar, A. V. R. (2011): Leaching of metals from fresh and sintered red mud. *Journal of Hazardous Materials* 185: 662-668. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.09.069
63. Gräfe, M., Power, G., Klauber, C. (2011): Bauxite residue issues: III. Alkalinity and associated chemistry. *Hidrometallurgy* 108(1-2): 60-79. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.02.004>
64. Gräfe, U., Schmelz, R.M. (1999): Indicator values, strategy types and life forms of terrestrial Enchytraeidae and other microannelids. *Newsletter on Enchytraeidae* 6: 59-67. <https://www.ifab-hamburg.de/documents/GraefeSchmelz1999.pdf>
65. 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
66. Herman Ottó Intézet (2016): Magyarország Környezeti Állapota. Adu Press KFT, Budapest. <http://www.hermanottointezet.hu/mka-2016> 2022. január 4.
67. Ho, G. E., Mathew, K., Newman, P. W. G. (1989): Leache quality from gypsum neutralized red mud applied to sandy soils. *Water, Air and Soil Pollution* 47:1-18.
68. Hua, Y., Heal, K. V., Friesl-Hanl, W. (2017): The use of red mud as an immobiliser for metal/metalloid-contaminated soil: A review. *Journal of Hazardous Materials* 325: 17-30. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.11.073
69. ISO 17512-1:2008 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*) <https://www.iso.org/standard/38402.html>
70. ISO 16387:2014 Soil quality — Effects of contaminants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.) — Determination of effects on reproduction <https://www.iso.org/standard/57067.html>
71. ISO 11268-1:2012 Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* <https://www.iso.org/standard/53527.html>
72. Jänsch, S., Amorim, M.J., Römbke, J. (2005): Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. *Environmental Reviews* 13(2): 51-83. <https://doi.org/10.1139/a05-007>
73. 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 poszterkötetete. Budapest (Hungary). ISBN: 9789638945280

74. Kerekes, I., Molnár, M., Feigl, V. (2017b): Vörösiszappal kezelt homoktalajok ökotoxikológiai vizsgálata. 60. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés és XIII. Környezetvédelmi Analitikai És Technológiai Konferencia, Debrecen
75. Keudel, M., Schrader, S. (1999): Axial and radial pressure exerted by earthworms of different ecological groups. *Biology Fertility of Soils* 29: 262-269. <https://doi.org/10.1007/s003740050551>
76. Klauber, C., Gräfe, M., Power, G. (2011): Bauxite residue issues: II. options for residue utilization. *Hydrometallurgy* 108(1-2): 11-32. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.02.007>
77. Kong, X., Li, M., Hartley, W., Wu, C., Li, X., Li, Y. (2017): Acid transformation of bauxite residue: Conversion of its alkaline characteristics. *Hazardous Materials* 324: 382-390. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.10.073
78. Krishna, P., Babu, A. G., Reddy, M. S. (2014): Bacterial diversity of extremely alkaline bauxite residue site of alumina industrial plant using culturable bacteria and residue 16S rRNA gene clones. *Extremophiles* (online) DOI:10.1007/j-geoderma.2001.07.011
79. 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
80. 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>
81. Kuroda, S., Kunita, I., Tanaka, Y., Ishiguro, A., Kobayashi, R., Nakagaki, T. (2014): Common mechanics of mode switching in locomotion of limbless and legged animals. *Journal of the Royal Society Interface* 11: 20140205 (online) <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0205>
82. Lee, S-H., Kim, E. Y., Park, H., Yun, J., Kim, J-G. (2011): In situ stabilization of arsenic and metal- contaminated agricultural soil using industrial by-products. *Geoderma* 161: 1-7. DOI:10.1016/j.geoderma.2010.11.008
83. Li, J-Y., Wang, N., Xu, R-K., Tiwari, D. (2010): Potential of industrial byproducts in ameliorating acidity and aluminum toxicity of soils under tea plantation. *Pedosphere* 20(5):645-654. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(10\)60054-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(10)60054-9)

84. Liu, W., Yang, J., Xiao, B. (2009): Review on treatment and utilization of bauxite residues in China. *International Journal of Mineral Processing* 93(3-4):220-231. <https://doi.org/10.1016/j.minpro.2009.08.005>
85. Lock, K., Janssen, C.R. (2002): Toxicity of arsenate to the compostworm *Eisenia fetida*, the potworm *Enchytraeus albidus* and the springtail *Folsomia candida*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 68(5): 760-765. <https://doi.org/10.1007/s001280320>
86. Loureiro, S., Amorim, M.V.J.B., Campos, B., Rodrigues, S.M.G., Soares, A.M.V.M. (2009): Assessing joint toxicity of chemicals in *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae) and *Porcellionides pruinosus* (Isopoda) using avoidance behaviour as an endpoint. *Environmental Pollution* 157(2): 625-636. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.08.010>
87. Loureiro, S., Soares, A. M. V. M., Nogueira, A. J. A. (2005): Terrestrial avoidance behavior test as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution* 138:121-131. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.02.013
88. 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
89. Mayes, W., Burke, I. (2015): Risk, remediation and recovery: lessons for bauxite residue management from Ajka. Bauxite residue valorisation and best practices conference. Leuven DOI:10.13140/RG.2.1.1662.5368/1.
90. Mayes, W.M., Burke, I.T., Gomes, H.I., Anton, Á.D., Molnár, M., Feigl, V., Ujaczki, É. (2016): Advances in understanding environmental risk of red mud after the Ajka spill, Hungary. *Journal of Sustainable Metallurgy* 2(4): 332-343. <http://homepages.see.leeds.ac.uk/~earitb/Mayes%20et%20al,%202016.pdf> 2022. január 4.
91. Moermond, C.T.A., Korkaric, M., Ägerstand, M., Kase, R.(2013): Reliability and relevance evaluation of ecotoxicity studies for use in risk assessment of chemicals. - Working version- http://www.scirap.org/Upload/Documents/Giudance%20document_reliability%20and%20relevance%20criteria.pdf 2021. január. 5.
92. Mohamed, O. A., Masood, S. H., Bhowmik, J. L. (2018): Investigation of dimensional variation in parts manufactured by fused deposition modeling using Gauge Repeatability and Reproducibility. *Materials Science and Engineering* 310: 012090. doi:10.1088/1757-899X/310/1/012090

93. MSZ 21470-2:1981 Környezetvédelmi talajvizsgálatok. Talajminta előkészítése, nedvességtartalom, elektromos vezetés és pH meghatározása, magyar Szabványügyi testület, 1982-2021
94. MSZ 21978-9:1998 Veszélyes hulladékok vizsgálata. Hulladékkivonatok készítése fizikai, kémiai és ökotoxikológiai vizsgálatokhoz, Magyar Szabványügyi testület 1998-2006
95. NEBIG, Talajvédelmi Szakterület (2021): Talajvédelmi cselekvési terv. <https://portal.nebih.gov.hu/documents/10182/1237425/Talajvedelmi+Cselekvesi+terv.pdf> 2021. szeptember 6.
96. Nunes, F.C., Alves, L. de J., Carvalho, C.Cs. N., de Gross, E. (2020): Soil as a complex ecological system for meeting food and nutritional security in: *Climate Change and Soil Interactions*: 229-269. DOI:10.1016/B978-0-12-818032-7.00009-6
97. 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
98. OECD 202: OECD (2004) Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en
99. OECD 220: OECD (2004) Test No. 220: Enchytraeid Reproduction Test https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-220-enchytraeid-reproduction-test_9789264070301-en
100. OECD (2006): Effects on Biotic Systems: Summary of considerations in the report from the OECD. <https://doi.org/10.1787/20745761>
101. OECD 235: OECD (2011) Test No. 235: Chironomus sp., Acute Immobilisation Test https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-235-chironomus-sp-acute-immobilisation-test_9789264122383-en
102. OECD 222: OECD (2016) Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*) https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-222-earthworm-reproduction-test-eisenia-fetida-eisenia-andrei_9789264264496-en
103. Olszewska, J.P., Meharg, A.A., Heal, K.V., Carey, M.P., Gunn, I.D.M., Searle, K.R., Winfield, I.J., Spears, B.M. (2016): Assessing the legacy of red mud pollution in a shallow freshwater lake: arsenic accumulation and speciation in macrophytes. *Environmental Science and Technology* 50(17): 9044-9052. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00942>
104. Pandard, P., Devillers, J., Charissou, A-M., Poulsen, V., Jourdain, M-J., Férard, J-F., Grand, C., Bispo, A. (2006): Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological

- characterization of wastes. *Science of the Total Environment*. 263(1-3): 114-125. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.12.016
105. Peijnenburg, W., Carpi, E., Kula, C., Liess, M., Luttkik, 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>
 106. Perreault, J.M., Whalen, J.K. (2006): Earthworm burrowing in laboratory microcosms as influenced by soil temperature and moisture. *Pedobiologia* (50): 397-403. <http://nrs-staff.mcgill.ca/whalen/publications/Pedobiologia%202006%20v50%20pp397-403.pdf>
 107. Potts, P.J., Webb, P.C. (1992): X-ray fluorescence spectrometry. *Journal of Geochemical Exploration* 44:251-296. [https://doi.org/10.1016/0375-6742\(92\)90052-A](https://doi.org/10.1016/0375-6742(92)90052-A)
 108. Power, G., Gräfe, M., Klauber, C. (2011): Bauxite residue issues: I. Current management, disposal and storage practicles. *Hydrometallurgy* 108:33-45. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.02.006>
 109. Quillin, K.J. (1999): Kinematic scaling of locomotion by hydrostatic animals: ontogeny of peristaltic crawling by the earthworm *Lumbricus terrestris*. *The Journal of Experimental Biology* 202:661-674. <https://doi.org/10.1242/jeb.202.6.661>
 110. Reiczigel, J., Harnos, A., Solymosi, N. (2014): *Biostatiztika nem statisztikusoknak*. Pars KFT., Nagykovácsi. ISBN:9789630637367
 111. Rékási, M., Feigl, V., Uzinger, N., Gruiz, K., Makó, A., Anton, A. (2013): Effects of leaching from alkaline red mud on soil biota: modelling the conditions after the Hungarian red mud disaster. *Chemistry and Ecology* 29(8): 709-723. <https://doi.org/10.1080/02757540.2013.817568>
 112. Ren, Q. (2015): The Application of Gage R&R analysis in s six sigma case of improving and optimizing an automotive die casting product's measurement system.
 113. Rouse, G.W., Pleijel, F. (2007): *Annelida in Linnaeus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy* (245-264 pp). Zootaxa Kiadó <https://www.biotaxa.org/Zootaxa/article/view/36159>. Masters Theses & Specialist Projects. Paper: 1536. <https://digitalcommons.wku.edu/theses/1536/>
 114. Römbke, J., Jänsch, S., Meier M., Hilbeck, A., Teichmann, H., Tappeser, B. (2009): General recommendations for soil ecotoxicological tests suitable for the environmental risk assessment of genetically modified plants. *Integrated Environmental Assessment and Management* 6(2): 287-300. DOI: 10.1897/IEAM_2009-043.1

115. Rubinos, D., Spagnoli, G., Barral, M.T. (2013): Assessment of bauxite refining residue (red mud) as a liner for waste disposal facilities. *International Journal of Mining* 29(6): 433-452 DOI:10.1080/17480930.2013.830906.
116. Ruiz, S. A., Or, D. (2018): Biomechanical limits to soil penetration by earthworms: direct measurement of hydrokeletal pressures and peristaltic motions. *Journal of the Royal Society Interface* 15: 20180127. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2018.0127>
117. Rutgers, M., Mulder, C., Schouten, A.J. (szerk.) (2008): Soil ecosystem profiling in the Netherland with ten references for biological soil quality. RIVM Kiadó, Bilthoven
118. 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. DOI:10.1016/j.ecoenv.2013.11.003
119. 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>
120. Santini, T.C., Kerr, J.L., Warren, L.A. (2015): Microbially-driven strategies for bioremediation of bauxite residue. *Journal of Hazardous Materials* 293: 131-157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.03.024>
121. Schaefer, M. (2003): Behavioural endpoints in earthworm ecotoxicology. *Journal of Soils and Sediments* 3(2): 79-84. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.318.110&rep=rep1&type=pdf>
122. Schwarz, M., Lalik, V. (2014): Possibilities of exploitation of bauxite residue from alumina production in: Recent researches in metallurgical engineering - from extraction to forming. Intech Open Kiadó DOI: 10.5772/2362
123. 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)
124. Snars, K. E., Gilkes, R., Wong, M. (2004): The liming effect of bauxite processing residue (red mud) on sandy soils. *Journal Australian Journal of Soil Research* 42(3): 321-328. <https://doi.org/10.1071/SR03021>
125. Somogyi, Z., Bakonyi, G., Kádár, I., Nagy, P., Kiss, I. (2004): Mikroelem-terhelés hatása a közönséges televényféregre (*Enchytraeus albidus*). *Agrokémia és Talajtan* 53(1-2):155-164. <https://doi.org/10.1556/agrokem.53.2004.1-2.11>

126. Stefanovits, P., Filep, Gy., Füleky, Gy. (szerk.) (1999): Talajtan. Mezőgazda Kiadó, Magyarország. ISBN: 9632861787
127. Summers, R. N., Guise, N. R., Smirk, D. D. (1993): Bauxite residue (red mud) increases phosphorus retention in sandy soil catchments in Western Australia. *Fertilizer Research* 34: 85-94. https://researchlibrary.agric.wa.gov.au/j_article/13/
128. Summers, R. N., Pech, J.D. (1997): Nutrient and metal content of water, sediment and soil amended with bauxite residue in the catchment of the Peel Inlet and Harvey Estuary, Western Australia. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 64(3):219-232. https://researchlibrary.agric.wa.gov.au/j_article/16/
129. Summers, R., Guise, N., Smirk, D., Summers, K. J. (1996): Bauxite residue (red mud) improves pasture growth on sandy soils in Western Australia. *Australian Journal of Soil Research* 34:569-581. https://researchlibrary.agric.wa.gov.au/j_article/15/
130. Swartjes, 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>
131. Szabó, Sz., Szabó, Gy. (2021): Savas terhelések hatásának környezetvédelmi értékelése a talajok réz- és mangánmobilizációjának példáján. http://geography.hu/mfk2004/mfk2004/cikkek/szabo_szabo.pdf
132. Szépvölgyi, J., Kótai, L. (2011): A vörösiszap képződése, tulajdonságai és tárolása. *Magyar Kémikusok Lapja* 66(1):2-8. https://matarka.hu/cikk_list.php?fusz=87758
133. Taylor, L. N., Scroggins, R. P. (2013): Standardization of ecotoxicological tests: The process. *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology*, Springer Kiadó, Dordrecht. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_97
134. Tömösy, L. (2004): Víz tisztaságvédelem- Szennyvíztisztítás /Oktatási segédlet a Víz tisztaságvédelem Környezetvédelem Környezetvédelmi eljárások és berendezések tantárgyakhoz <https://www.scribd.com/document/515616909/Dr-Tomosy-Laszlo-Viztisztasagvedelem-Szennyvizisztitas>
135. 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.
136. van Gestel, C.A. (2012): Soil ecotoxicology. State of the art and future directions. *Zookeys* 176: 275-296. doi:10.3897/zookeys.176.2275

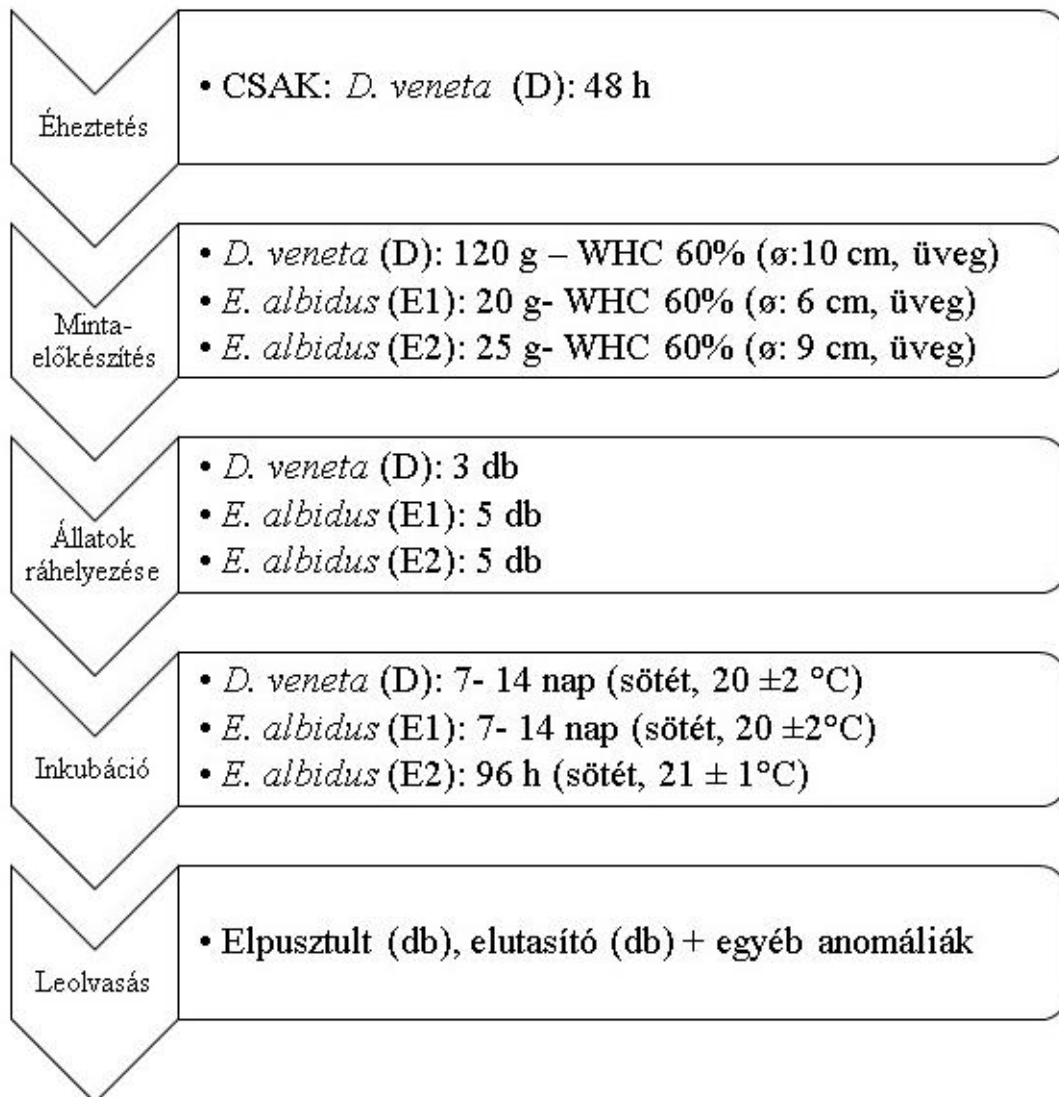
137. van Goernigen, J.W., Lubbers, I.M., Vos, H.M.J., Brown, G.G., de Deyn, G.B., van Goernigen, K.J. (2014): Earthworms increase plant production: a meta- analysis. *Scientific Reports* (online):6365. <https://doi.org/10.1038/srep06365>
138. Várallyay, G., Rédly, M., Murányi, A., Szabó, J. (1993): Map of the susceptibility of soils to acidification in Hungary. *Agrokémia és Talajtan* 42(1-2): 35-42. <https://www.mta-taki.hu/hu/aton>
139. Wall, D. (szerk.) (2012): *Soil ecology and ecosystem services*. Oxford University Kiadó, Oxford. DOI:10.1093/acprof:oso/9780199575923.001.0001
140. Wang, K-H., McSorley, R. (2005): Effects of soil ecosystem management on nematode pests, nutrient cycling, and plant health. *APSnet Features*: online. doi: 10.1094/APSnetFeatures/2005-0105
141. Winkler, D. (2014): Collembolan response to red mud pollution in Western Hungary. *Applied Soil Ecology* 83:219-229. DOI:10.1016/j.apsoil.2013.07.006
142. Wrzochal, M., Adamczak, S. (2019): Application of a Gage R&R study in evaluation of rolling bearing measurement system accuracy. *Transportation Research Procedia* 40:934-939. 10.1016/j.trpro.2019.07.131
143. Xue, S., Kong, X., Zhu, F., Hartley, W., Li, X., Li, Y. (2016): Proposal management and alkalinity transformation of bauxite residue in China. *Environmental Science and Pollution* 23(13): 12822-12834. DOI: 10.1007/s11356-016-6478-7
144. 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 Gobal Conference on Environmental Studies (CENVISU-2013), Antalya* <http://archives.un-pub.eu/index.php/paas/article/viewFile/2302/3622>
145. Swartjes, F. A. (1999): Risk-Based Assessment of Soil and Groundwater Quality in the Netherlands: Standards and Remediation Urgency, *Risk Analysis*, 19(6):. 1235–1249, 19. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.1999.tb01142.x>

Források (2022. január 4.):

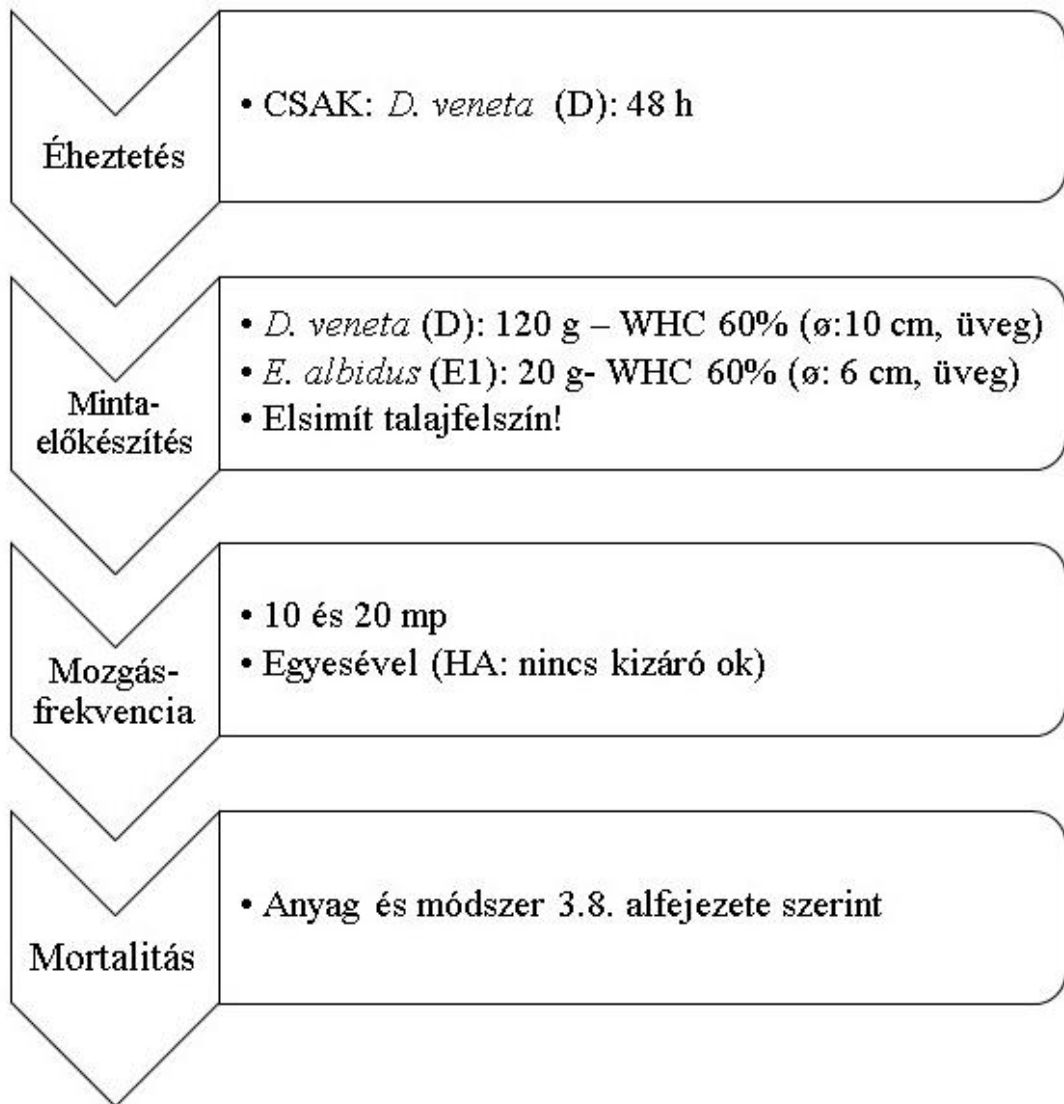
1. [http 1: Alumínium, World Alumínium & European \(2015\): Bauxite Residue Manegement: Best Particle \[https://bauxite.world-alumínium.org/fileadmin/user_upload/Bauxite_Residue_Manegement_-_Best_Practice__English__Compressed.pdf\]\(https://bauxite.world-alumínium.org/fileadmin/user_upload/Bauxite_Residue_Management_-_Best_Practice__English__Compressed.pdf\)](http://1:Alumínium, World Alumínium & European (2015): Bauxite Residue Manegement: Best Particle https://bauxite.world-alumínium.org/fileadmin/user_upload/Bauxite_Residue_Management_-_Best_Practice__English__Compressed.pdf)
2. [http 2: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0700129.tv>](http://2: https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0700129.tv)
3. [http 3: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0800090.fvm>](http://3: https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0800090.fvm)
4. [http 4: <https://meszotar.hu/keres-peristaltica>](http://4: https://meszotar.hu/keres-peristaltica)

5. http 5: https://bauxite.world-aluminium.org/fileadmin/_migrated/content_uploads/Bauxite_Residue_Management_-_Best_Practice__English_.pdf
6. http 6: https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/ref/?cid=nrcs142p2_054253
7. http 7: http://global.chuo-u.ac.jp/chinese_big5/features/2014/03/4462/
8. http 8: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0100050.kor>
9. http 9: https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_card_id=0926&p_version=1&p_lang=hu
10. http 10: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/cobalt-compounds.pdf>
11. http 11: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0900006.kvv>
12. .hppt12. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-9834-HU-HU.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyMzUzMjZ8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oYWlvaGFmLzg5NjY0OTYwOTIxOTAucGRmfGU0MzUzMThhNWQwOGVmMjI1ZDA1NGZiNmQ1ZjUyZWY2OTBjODI1MDNmYzBmMTIIMTY3OWU4YTViMDdiNDRhYjI>
13. http 13: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a1300072.vm>

M2 – Kísérletek sematikus folyamatábrája



1. ábra: Mortalitási teszt folyamata



2. ábra: Mozgás-frekvencia teszt folyamata

M3- Bevezetett fogalmak listája és elvégzett statisztikai próbák összefoglalása

Mozgás-frekvencia: Az állatok egységnyi idő alatti horizontális szelvényösszehúzódnásának egysége.

Precizitás: a mérés ismételhetőségének pontossága

Alkalmazhatóság: a mérésből levonható következtetések azonossága

Ismételhető: a precizitás része. Az időben ismételt mérések azonos mértékben precízek.

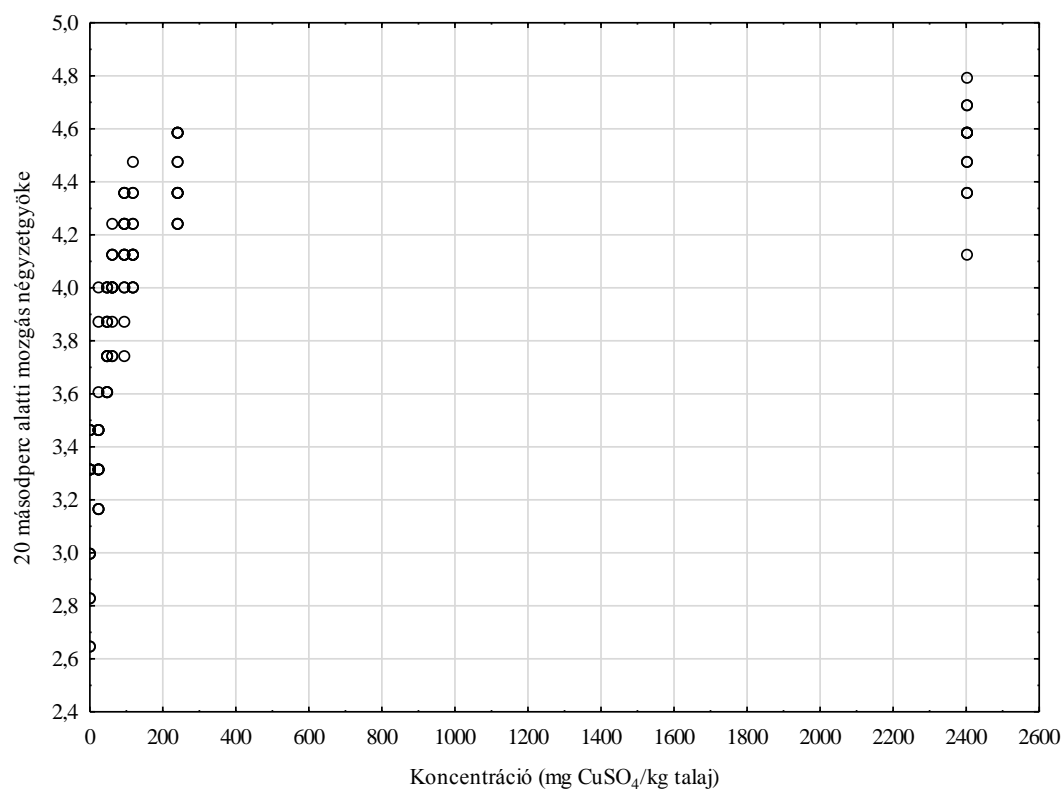
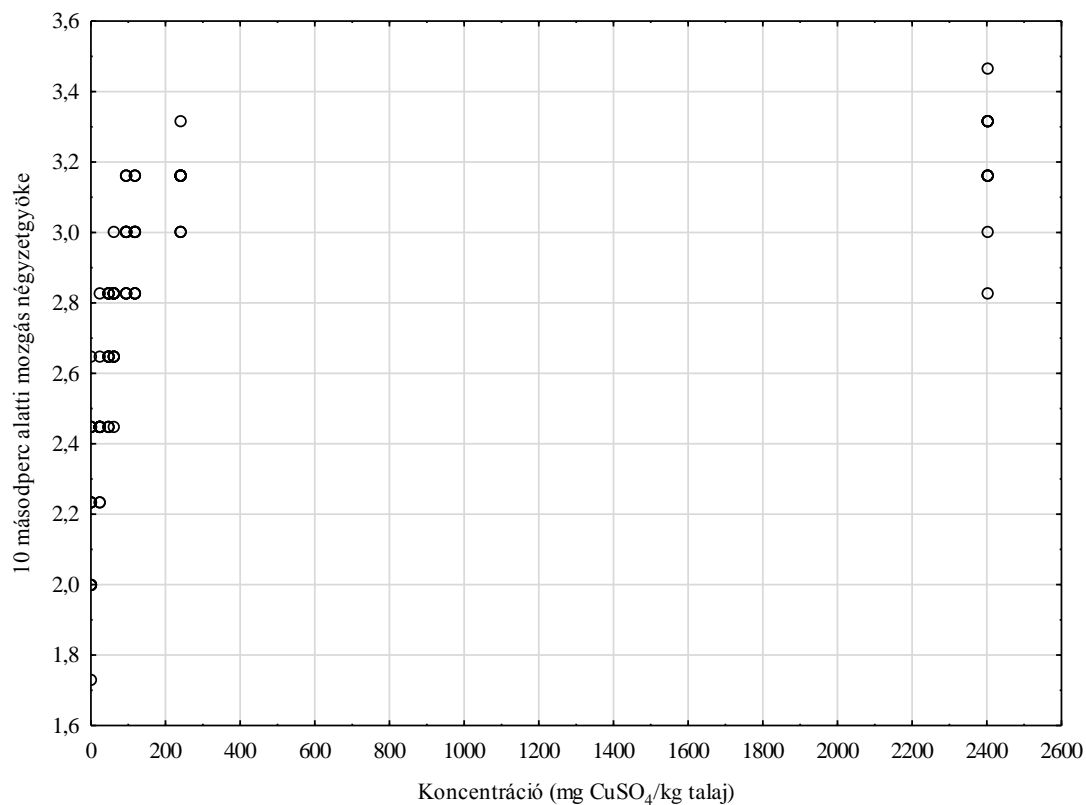
Reprodukálható: a precizitás része. A más személyek által elvégzett mérések azonos mértékben precízek.

Elutasítás: elutasító azon állat, amely a tesztközegbe (mintába) nem ássa le magát. A teszt teljes időtartama alatt annak felszínén marad (a napi ellenőrzés során a felszínen van és a mintában áss nyomok nem találhatóak).

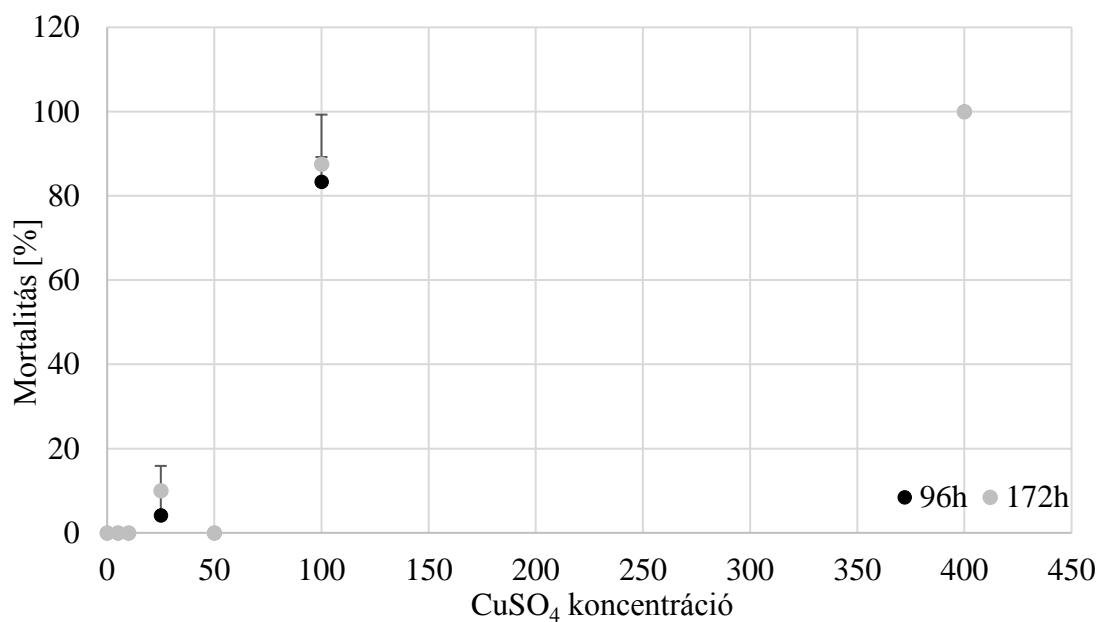
1. táblázat: Alkalmazott statisztikai próbák az egyes kísérletek esetén

Kísérleti szakasz	Vizsgálat(i végpont)/ értékelési mód	Alkalmazott statisztikai próba
Mozgás-frekvencia végpont fejlesztése	Alkalmazhatóság és ismételhetőség vizsgálata (mért adat)	Gage R&R
	Stimulációs%	GLM modell
	<i>Körteszt megközelítés (mért adat)</i>	Egy faktoros ANOVA (Tukey)
Hígítatlan vörösiszapok ökotoxikológiai vizsgálata	pH (mért adat)	2 mintás t-próba
	Víztartóképesség (mért adat)	2 mintás t-próba
	Mortalitás (mért adat)	2×2 frekvencia tábla
	(Mozgás-frekvencia)	GLZ modell
Vörösiszap koncentrációk ökotoxikológiai vizsgálata	Víztartóképesség (mért adat)	többfaktoros ANOVA
	Mortalitás (mért adat)	többfaktoros ANOVA
	(Mozgás-frekvencia) (mért adat)	GLZ modell

M4- Előkísérleti eredmények

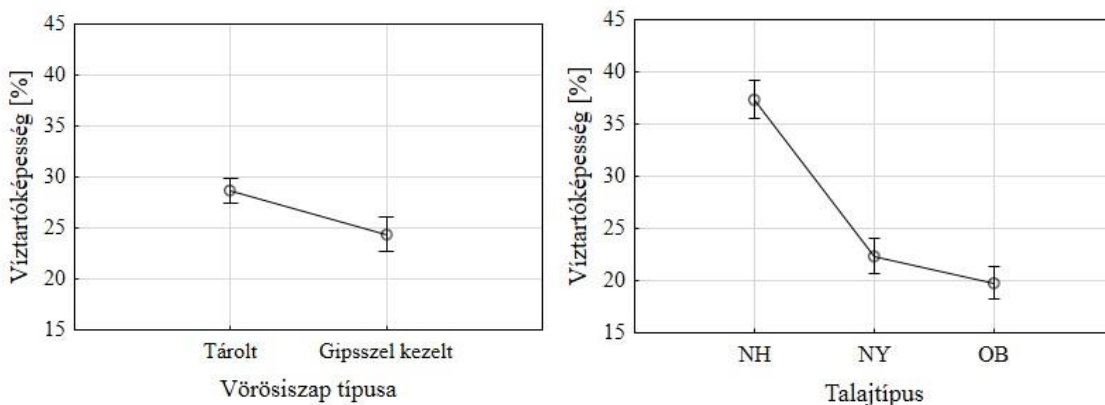


1. ábra: 10 és 20 mp alatt mérhető mozgások négyzetgyöke a mozgás-frekvencia teszt előkísérleti során

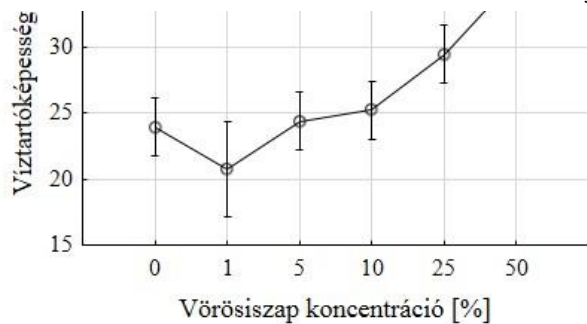


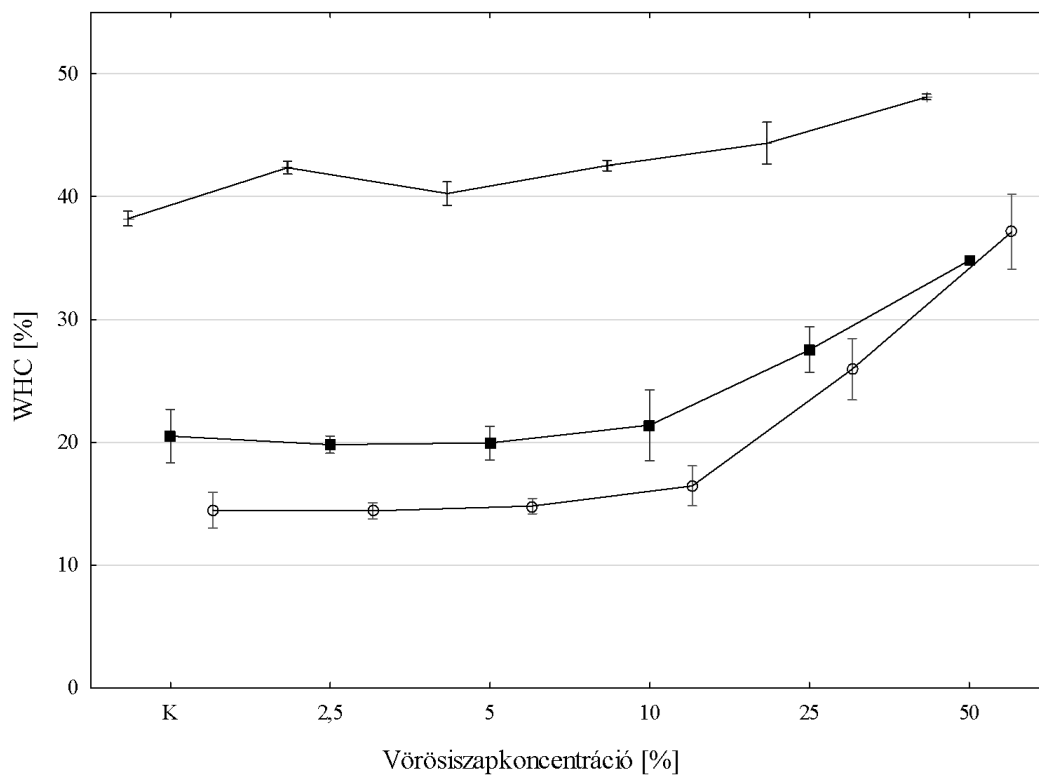
2. ábra: Közönséges televényféreg (*E. albidus*) mortalitási% a leolvasási időpontokban
A hibásáv a szórást ábrázolja A pontozott vonalak a két mérési időpont mozgó átlagát jelenítik meg.

M5- Vízretartóképesség diagramok

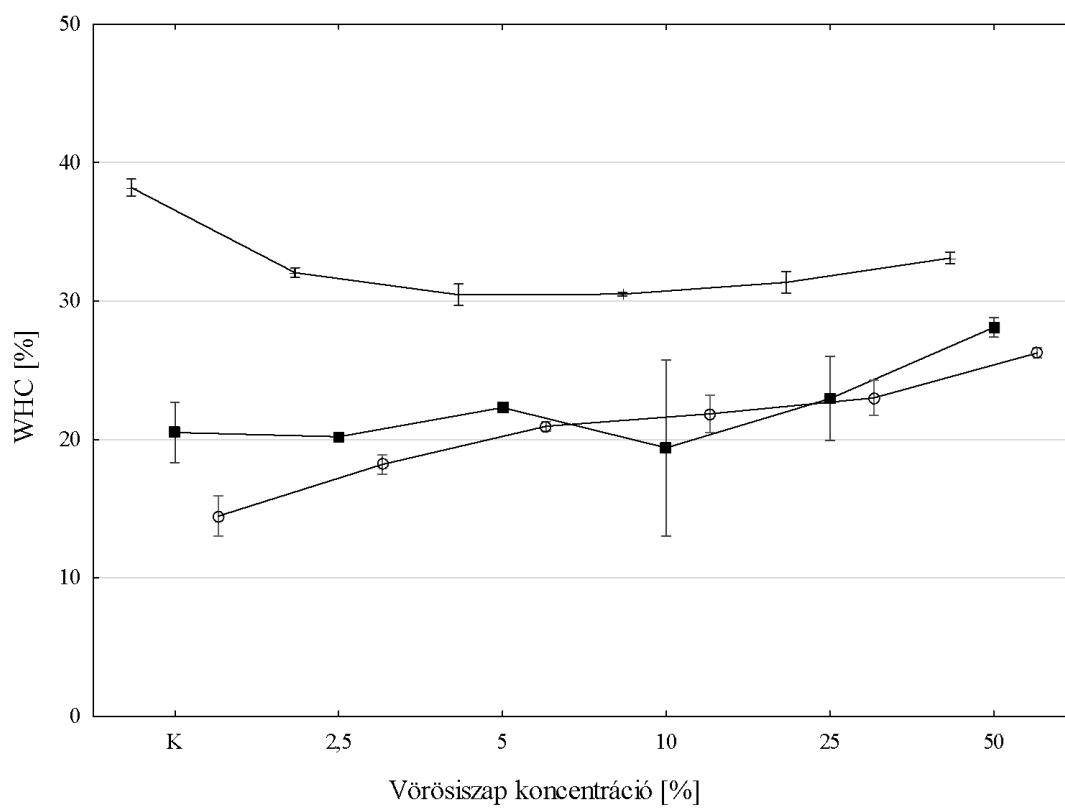


3. ábak: ANOVA modell alapján a különböző faktorok hatásai a vízretartóképességre. A hibásáv a becsült konfidencia intervallumot ábrázolja





4. ábra: Vörösiszap hozzáadás hatása a víztartóképességre a kezeletlen vörösiszap esetén (kereszt: NH, teli négyzet: NY, körvonal:OB). A hibásáv a szórást ábrázolja



5. ábra: Vörösiszap hozzáadás hatása a víztartóképességre a gipszel kezelt vörösiszap esetén (kereszt: NH, teli négyzet: NY, körvonal:OB). A hibásáv a szórást ábrázolja

M6: A tézisértékű eredményekhez kapcsolódó publikációk listázása

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

A jelenleg rendelkezésre álló eredményeim alapján a mozgás-frekvencia teszt megfelelő precizitással és pontossággal elvégezhető (ismételtető 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 televényfereg (*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 környezetoxikológiai vizsgálatokban (előadás). KeMoMo–QSAR 2021 szimpózium, 2021 szeptember 30-október 1. Szeged.

Ökotoxikológiai célkitűzések:

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 alapján talajjavításra történő biztonságos alkalmazhatósága a vizsgált talaj tulajdonságaitól (pH, elem tartalom) és vörösiszap tulajdonságaitól (pH, elem tartalom) függött. Bebizonyítottam, hogy a vörösiszap hozzáadás nem minden homoktalaj esetén talajjavító hatású.

Fémekkel terhelt vályog (nagyhöröcsöki) talaj esetén nem volt javasolt az alkalmazása. Lúgos talajok esetén (nagyhöröcsöki 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. Az általam 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 televényfereg (E. albidus) és földigiliszta féle (D. veneta) tesztfajok alkalmazásával.

A hatás függött a vörösiszap típusától. Még az érzékenyebb teszt faj (*E. albidus*) esetén is, csak a porított formának volt toxikus hatása. Kivonatban vagy extraktumként még a nagy koncentrációk sem okoztak kimutatható toxicitást.

A nagyobb testméretű *D. veneta* tesztfajra csak a tömény vörösiszap minták voltak toxikusak. A gipsszel kezelt vörösiszapnak a vizsgált koncentrációkban nem volt letális hatása. Az *E. albidus* teszt faj esetén a kezeletlen vörösiszapnak koncentrációfüggő a hatása volt, amely a különböző talajokban 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>

Nyilatkozat a doktorjelölttel (Kerekes Ivett Kriszta) közös tudományos eredményekről

Én, **Dr. Molnár Mónika** (Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem – egyetemi docens) véglegesen és visszavonhatatlanul, díjazási igény nélkül kijelentem azt, hogy:

1. az alábbi eredmények megszületésében a doktorjelölt játszott a szerzők közül legnagyobb szerepet. A doktorjelölt a disszertációjában az eredményeket és módszereket sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban, bármilyen célra és módon felhasználhatja, mindennemű szerzői jogait korlátozásmentesen gyakorolhatja. Az eredmények és módszerek bármilyen módon történő felhasználásakor közreműködésemet a műben tételen nem felsorolva, köszönetnyilvánításban kell feltüntetni:

1.a. * Ivett Kriszta Kerekes, Viktória Feigl: The Effect of Bauxite Residue on the Avoidance Behavior of *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae) <https://doi.org/10.3311/PPch.12849>

különös tekintettel: az 1.2.3. ábrák, a 3, 4, 5, 6, 7, 8. táblázatok és a 2.6-2.7 fejezetekben leírt módszerek esetén

1.b. Ivett Kerekes, Éva Pusztai, Viktória Feigl, Sándor Kemény (2021): Acute Ecotoxicological Effects of Bauxite Residue Addition on Mortality and Motion-frequency of *Dendrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus* (Annelida) in Three Types of Soils <https://pp.bme.hu/ch/article/view/18160> helyett kiadott cikk (2022) jelenleg kézirat

különös tekintettel: az 1. 2. 3. 4. ábrák, a 4, 5, 6, 7, 8, 9. táblázatok, a 2.4.-2.5. fejezetekben leírt módszerek, a 3.1-3.3. fejezetekben publikált egyéb eredmények és az Appendix A, Appendix B, Appendix C részét képező eredmények esetén

2. az alábbi közleményekben a doktorjelölt tevékenyen részt vett, azok a Magyar Tudományos Művek Tárában jogosan szerepelnek a doktorjelölt munkái között. A doktorjelölt az eredményekre a közlemények kapcsán a forrás feltüntetésével az egyes közlemények esetén részletezettek szerint, azokra bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban hivatkozhat:

2.a. 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. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett. A munkában szereplő E. albidus fajjal végzett tesztek eredményei a doktorjelölt hallgatóival és társszerzőivel történt közös munka eredménye, amely eredmények a doktorjelölt 2018-as cikke* részét képezik.*

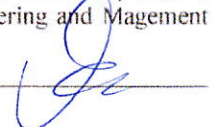
2.b. Kerekes, I. K., Majnovics, Á., Hegyi, D., **Molnár, M.**, Feigl, V. (2018): Vörösiszap ökotoxikológiai hatása homoktalajokban közepes távú mikrokozmosz kísérletben (poszter). VIII. Ökotoxikológiai Konferencia, 2018 november 23. Budapest. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett.*

2.c. Kerekes, I., **Molnár, M.**, Feigl, V. (2018): Közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) elkerülési tesztek alkalmazása talajjavító adalékok és szennyezőanyagok minősítésére (előadás és cikk) – Füleky, Gy. (szerk.): XIV. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia. MAG Mezőgazdaságért Alapítvány Gödöllő, Gödöllő, 143-147 pp. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett. A benne szereplő elkerülési tesztek a doktorjelölt 2018-ban publikált cikke* alapján lettek elvégezve. Az 1, 2, 3. ábrán bemutatott eredmények a doktorjelölt hallgatóival és társszerzőivel történt közös munka eredménye, amelyekben a doktorjelölt minimum 51%-os részaránnyal működött közre.*

2.d. Kerekes, I., Feigl, V., Farkas, É., **Molnár, M.** (2019): Ökotoxikológiai tesztek közönséges televényféreggel bioszén, mint talajjavító adalék hatásának felmérésére (előadás). Tavasz Szél Konferencia, 2019 május 3-5. Debrecen. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett. A benne szereplő elkerülési tesztek a doktorjelölt 2018-ban publikált cikke* alapján lettek elvégezve. A „2.c.” forrásban is szereplő eredmény létrejöttében a doktorjelölt hallgatóival és társszerzőivel történt közös munka eredménye, amelyekben a doktorjelölt minimum 51%-os részaránnyal működött közre.*

3. a doktorjelölt közreműködött (<50%) az alábbi tudományos munkákban, amelyek az Magyar Tudományos Művek Tárában a nevéhez kapcsoltan szerepelnek. A doktorjelölt a tudományos munkákat a szakmai önéletrajzában feltüntetheti:

3.a. Feigl, V., Kerekes, I., Farkas, É., **Molnár, M.** (2017): The effect of red mud on the soil biota in sandy soils- a microcosm experiment (előadás). 9 th International Conference on Environmental Engineering and Magement



Nyilatkozat a doktorjelölttel (Kerekes Ivett Kriszta) közös tudományos eredményekről

(ICEEM09), 2017 szeptember 6-9., Bologna

3.b.Farkas, É., Kerekes, I., Tolner, M., Szabó, Á., Vaszita, E., **Molnár, M.** (2019): 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, 2019 augusztus 25-30, Thessaloniki, Görögország

3.c.Farkas, É.; Feigl, V.; Gruiz, K.; Vaszita, M.; Fekete-Kertész, I.; Tolner, M.; Kerekes, I.; Pusztai, É.; Kari, A.; Uzinger, N.; Rékási, M.; Kirckeszner, Cs.; **Molnár, M.** (2020): Long-term 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* 731: 138988 (online). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138988>

4. a doktorjelölt tájékoztatott, hogy a Budapesti Műszaki Egyetem, Alkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi Tanszék Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport (amelynek én is munkatársa vagyok) által biztosított vörösiszap mintából (2016 tárolt és 2016 gipszes) a Magyar Agrár és Élettudományi Egyetemen a helyi doktori iskola hallgatójaként további elkerülési vizsgálatokat végzett el *Enchytraeus albidus* tesztfajjal, amely vizsgálatok eredményei a doktorjelölt szellemi tulajdona, azzal sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban hivatkozhat, bármilyen célra és módon felhasználhatja, mindennemű szerzői jogait korlátozásmentesen és kizárólagosan gyakorolhatja. A létrejött eredmények bármilyen formában történő közlése esetén közreműködésünk a köszönetnyilvánításban (kutatócsoport, személyem névszerűen, de nem tételes említésével és projektszámmal) feltüntetendő.

Kijelentem, hogy a jelen nyilatkozat kapcsán tévedésben nem vagyok, kényszer, fenyegetés, megfélemlítés hatása alatt nem állok. Jelen nyilatkozat akaratommal mindenben megegyezik.

Budapest, 2022.02.15.



Dr. Molnár Mónika

egyetemi docens

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék
Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport



Nyilatkozat a doktorjelölttel (Kerekes Ivett Kriszta) közös tudományos eredményekről

Én, **Dr. Feigl Viktória Dóra** (Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem – egyetemi adjunktus) véglegesen és visszavonhatatlanul, díjazási igény nélkül kijelentem azt, hogy:

1. az alábbi eredmények megszületésében a doktorjelölt játszott a szerzők közül legnagyobb szerepet. A doktorjelölt a disszertációjában az eredményeket és módszereket sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban, bármilyen célra és módon felhasználhatja, mindennemű szerzői jogait korlátozásmentesen gyakorolhatja. Az eredmények és módszerek bármilyen módon történő felhasználásakor közreműködésemet a műben tételesen nem felsorolva, köszönetnyilvánításban kell feltüntetni:

1.a.*Ivett Kriszta Kerekes, **Viktória Feigl**: The Effect of Bauxite Residue on the Avoidance Behavior of *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae) <https://doi.org/10.3311/PPch.12849>

különös tekintettel: az 1.2.3. ábrák, a 3. 4. 5. 6. 7. 8. táblázatok és a 2.6-2.7 fejezetekben leírt módszerek esetén

1.b.Ivett Kerekes, Éva Pusztai, **Viktória Feigl**, Sándor Kemény (2021): Acute Ecotoxicological Effects of Bauxite Residue Addition on Mortality and Motion-frequency of *Dendrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus* (Annelida) in Three Types of Soils <https://pp.bme.hu/ch/article/view/18160> helyett kiadott cikk (2022) jelenleg kézirat

különös tekintettel: az 1. 2. 3. 4. ábrák, a 4. 5. 6. 7. 8. 9. táblázatok, a 2.4.-2.5. fejezetekben leírt módszerek, a 3.1-3.3. fejezetekben publikált egyéb eredmények és az Appendix A, Appendix B, Appendix C részét képező eredmények esetén

2. az alábbi közleményekben a doktorjelölt tevékenyen részt vett, azok a Magyar Tudományos Művek Tárában jogosan szerepelnek a doktorjelölt munkái között. A doktorjelölt az eredményekre a közlemények kapcsán a forrás feltüntetésével az egyes közlemények esetén részletezettek szerint, azokra bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban hivatkozhat:

2.a.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. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett. A munkában szereplő E. albidus fajjal végzett tesztek eredményei a doktorjelölt hallgatóival és társszerzőivel történt közös munka eredménye, amely eredmények a doktorjelölt 2018-as cikke* részét képezik.*

2.b.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. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett.*

2.c.Kerekes, I., Molnár, M., **Feigl, V.** (2018): Közönséges televényféreg (*Enchytraeus albidus*) elkerülési tesztek alkalmazása talajjavító adalékok és szennyezőanyagok minősítésére (előadás és cikk) – Füleky, Gy. (szerk.): XIV. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia. MAG Mezőgazdaságért Alapítvány Gödöllő, Gödöllő, 143-147 pp. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett. A benne szereplő elkerülési tesztek a doktorjelölt 2018-ban publikált cikke* alapján lettek elvégezve. Az 1, 2, 3. ábrán bemutatott eredmények a doktorjelölt hallgatóival és társszerzőivel történt közös munka eredménye, amelyekben a doktorjelölt minimum 51%-os részaránnyal működött közre.*

2.d.Kerekes, I., **Feigl, V.**, Farkas, É., Molnár, M. (2019): Ökotoxikológiai tesztek közönséges televényféreggel bioszén, mint talajjavító adalék hatásának felmérésére (előadás). Tavasz Szél Konferencia, 2019 május 3-5., Debrecen. *A közleményben a doktorjelölt tevékenyen (előadó és szerző) részt vett. A benne szereplő elkerülési tesztek a doktorjelölt 2018-ban publikált cikke* alapján lettek elvégezve. A „2.c.” forrásban is szereplő eredmény létrejöttében a doktorjelölt hallgatóival és társszerzőivel történt közös munka eredménye, amelyekben a doktorjelölt minimum 51%-os részaránnyal működött közre.*

3. a doktorjelölt közreműködött (<50%) az alábbi tudományos munkákban, amelyek az Magyar Tudományos Művek Tárában a nevéhez kapcsoltnak szerepelnek. A doktorjelölt a tudományos munkákat a szakmai önéletrajzában feltüntetheti:

3.a.**Feigl, V.**, Kerekes, I., Farkas, É., Molnár, M. (2017): The effect of red mud on the soil biota in sandy soils- a microcosm experiment (előadás). 9 th International Conference on Environmental Engineering and Magement (ICEEM09), 2017 szeptember 6-9., Bologna

Nyilatkozat a doktorjelölttel (Kerekes Ivett Kriszta) közös tudományos eredményekről

4. a doktorjelölt tájékoztatott, hogy a Budapesti Műszaki Egyetem, Alkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi Tanszék Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport (amelynek én is munkatársa vagyok) által biztosított vörösiszap mintából (2016 tárolt és 2016 gipszes) a Magyar Agrár és Élettudományi Egyetemen a helyi doktori iskola hallgatójaként további elkerülési vizsgálatokat végzett el *Enchytraeus albidus* tesztfajjal, amely vizsgálatok eredményei a doktorjelölt szellemi tulajdona, azzal sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban hivatkozhat, bármilyen célra és módon felhasználhatja, mindennemű szerzői jogait korlátozásmentesen és kizárólagosan gyakorolhatja. A létrejött eredmények bármilyen formában történő közzétevése esetén közreműködésünk a köszönetnyilvánításban (kutatócsoport, személyem névszerinti, de nem tételes említésével és projektszámmal) feltüntetendő.

Kijelentem, hogy a jelen nyilatkozat kapcsán tévedésben nem vagyok, kényszer, fenyegetés, megtévesztés hatása alatt nem állok. Jelen nyilatkozat akaratommal mindenben megegyezik.

Budapest, 2022.02.15.



Dr. Feigl Viktória Dóra

egyetemi adjunktus

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék
Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport



Nyilatkozat a doktorjelölttel közös tudományos eredményekről

Én, **Pusztai Éva** (Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem – tanársegéd) kijelentem azt, hogy:

véglegesen és visszavonhatatlanul, díjazási igény nélkül kijelentem azt, hogy:

1. az alábbi eredmények megszületésében a doktorjelölt játszott a szerzők közül legnagyobb szerepet. A mozgás-frekvencia laboratóriumi mérési módszer kifejlesztésében a doktorjelölt játszott a legnagyobb szerepet. A doktorjelölt a disszertációjában az eredményeket és módszereket a statisztikai módszerek kivételével sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban, bármilyen célra és módon felhasználhatja, mindennemű szerzői jogait korlátozásmentesen gyakorolhatja. Az eredmények és módszerek bármilyen módon történő felhasználásakor közreműködésemet a műben tételesen nem felsorolva, köszönetnyilvánításban kell feltüntetni:

1.a. **Ivett Kerekes, Éva Pusztai, Viktória Feigl, Sándor Kemény** (2021): Acute Ecotoxicological Effects of Bauxite Residue Addition on Mortality and Motion-frequency of *Dendrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus* (Annelida) in Three Types of Soils <https://pp.bme.hu/ch/article/view/18160> helyett kiadott cikk (2022) jelenleg kézirat

különös tekintettel: az 1, 2, 3, 4. ábrák, a 4, 5, 6, 7, 8, 9. táblázatok, a 2.4.-2.5. fejezetekben leírt módszerek, a 3.1-3.3. fejezetekben publikált egyéb eredmények és az Appendix A, Appendix B, Appendix C részét képező eredmények esetén

2. A doktorjelölt a disszertációjában az eredményeket a doktori disszertációjában sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban, bármilyen célra és módon felhasználhatja. A mozgás-frekvencia laboratóriumi mérési módszer kifejlesztésében a doktorjelölt játszott a legnagyobb szerepet. A Gage R&R statisztikai módszerek alkalmazásában való közreműködésemet feltüntetendő. Az eredmények és módszerek bármilyen módon történő felhasználásakor közreműködésemet a műben tételesen nem felsorolva, köszönetnyilvánításban kell feltüntetni:

2.a. **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.

Kijelentem, hogy a jelen nyilatkozat kapcsán tévedésben nem vagyok, kényszer, fenyegetés, megfélemlítés hatása alatt nem állok. Jelen nyilatkozat akaratommal mindenben megegyezik.

Budapest, 2022.03.01.



Pusztai Éva

egyetemi tanársegéd
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Vegyésszámológiai és Biomérnöki Kar
Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék

Nyilatkozat a doktorjelölttel közös tudományos eredményekről

Én, **DR. Kemény Sándor** (Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem – Professor Emeritus) kijelentem azt, hogy:

1. az alábbi eredmények megszületésében a doktorjelölt játszott a szerzők közül legnagyobb szerepet. A mozgás-frekvencia laboratóriumi mérési módszer kifejlesztésében a doktorjelölt játszotta a legnagyobb szerepet. A doktorjelölt a disszertációjában az eredményeket és módszereket a statisztikai módszerek kivételével sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban, bármilyen célra és módon felhasználhatja, mindennemű szerzői jogait korlátozásmentesen gyakorolhatja. Az eredmények és módszerek bármilyen módon történő felhasználásakor közreműködésemet a műben tételesen nem felsorolva, köszönetnyilvánításban kell feltüntetni:

1.a. Ivett Kerekes, Éva Pusztai, Viktória Feigl, **Sándor Kemény** (2021): Acute Ecotoxicological Effects of Bauxite Residue Addition on Mortality and Motion-frequency of *Dendrobaena veneta* and *Enchytraeus albidus* (Annelida) in Three Types of Soils <https://pp.bme.hu/ch/article/view/18160> helyett kiadott cikk (2022) jelenleg kézirat

különös tekintettel: az 1, 2, 3, 4. ábrák, a 4, 5, 6, 7, 8, 9. táblázatok, a 2.4.-2.5. fejezetekben leírt módszerek, a 3.1-3.3. fejezetekben publikált egyéb eredmények és az Appendix A, Appendix B, Appendix C részét képező eredmények esetén

2. A doktorjelölt a disszertációjában az eredményeket a doktori disszertációjában sajátjaként bármilyen vonatkozásban és megfogalmazásban, bármilyen célra és módon felhasználhatja. A mozgás-frekvencia laboratóriumi mérési módszer kifejlesztésében a doktorjelölt játszotta a legnagyobb szerepet. A Gage R&R statisztikai módszerek alkalmazásában való közreműködésemet feltüntetendő. Az eredmények és módszerek bármilyen módon történő felhasználásakor közreműködésemet a műben tételesen nem felsorolva, köszönetnyilvánításban kell feltüntetni:

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

Kijelentem, hogy a jelen nyilatkozat kapcsán tévedésben nem vagyok, kényszer, fenyegetés, megtévesztés hatása alatt nem állok. Jelen nyilatkozat akaratommal mindenben megegyezik.

Budapest, 2022.02.15.



DR. Kemény Sándor

Professor Emeritus

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Vegyésszámológiai és Biomérnöki Kar

Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék