

A *Folsomia candida* (Collembola) tesztorganizmus alkalmazása szilárd környezeti minták ökotoxikológiai tesztelésére

Összeállította: Fekete-Kertész Ildikó, Feigl Viktória, Molnár Mónika 2013.

Elméleti áttekintés: Gruiz Katalin, Horváth Beáta, Molnár Mónika: **Környezettoxicológia**, Műegyetemi Kiadó, 2001. c. könyvből **74-79. oldalak**. **A LABORBEUGRÓBAN SZEREPEL!!!**

Összefoglaló jellemzés

Teszt típusa: egy fajt alkalmazó, laboratóriumi, állati, akut toxicitási és krónikus (reproduktivitási) teszt. Mikrokozmosz tesztként is alkalmazható.

Alkalmas: teljes talajra közvetlen módon, talajkivonat standard talajra itatva vizsgálható.

Tesztorganizmus: *Folsomia candida*, ugróvillás Collembola, nehézfémekre kevésbé, szerves szennyezőanyagokra érzékeny, főleg az illékonyakra és a bőrön át felszívódókra.

Végpont: állatok száma: letalitás, hígításból EC₂₀, EC₅₀, ill. ED₂₀, ED₅₀; reproduktivitási teszt alapján NOEC.

Szükséges műszer: citoplaszt mikroszkóp vagy vizuális.

Tesztelés időtartama: akut: 5-10 nap, reprodukciós: 20 nap.

A teszt szabványosított formában: ISO 11267:1999, Soil quality -- Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants; OECD/OCDE 232, OECD Guidelines for testing chemicals: Collembolan reproduction test in soil (2009)

Megjegyzés: jól reprodukálható, könnyen kivitelezhető teszt.

Tesztorganizmus

A *Folsomia candida* faj a Collembolák (ugróvillások) rendjébe tartozik. Apró (max. 3-4 mm hosszú) fehér állatkák, a hasi oldalukon ugróvillájuk van, amit ha hátra csapnak felpattannak a levegőbe. A talajban élnek, erdőben előfordulhat, hogy m²-enként 100 000 található belőlük. Hasi tömlővel lélegzik, emiatt a talajgőzökre érzékenyen reagál.

A Collembolák *epimorfózissal* (kifejléssel) szaporodnak. Ha nagyon alacsony a nedvességtartalom, a peték kiszáradnak. Megfelelő nedvességtartalmú, 20°C-os környezetben a peték 10-15 nap alatt kelnek ki, a kikelt állatok újabb 10-15 nap alatt válnak ivaréretté.



Tesztmódszer

A faj akut és krónikus teszthez is használható, az akut teszt 5-10 napig tart, ami azt veszi figyelembe, hogy hány százalékban maradnak életben az állatok a vizsgált mintán. Ezzel a teszttel lehet a minta hígításából az EC₂₀-at és EC₅₀-et vagy ED₂₀-at és ED₅₀-et meghatározni. A másik a négy hétig tartó krónikus teszt. Ez a teszt tulajdonképpen egy reprodukció vizsgálat, mivel a megmaradt állatok száma mellett figyelembe veszi azt is, hogy milyen mértékben szaporodtak.

Tesztorganizmus fenntartása

Az állatok labor körülmények között gipszből és aktív szénből készített mesterséges aljzaton tarthatóak életben. A mesterséges aljzathoz egy 12,5×9×4,5 cm-es műanyag edénybe 40 g gipszet és 5 g aktív szénport kell bemérni, és gondosan összekeverni. Majd 45 ml meleg vizet kell hozzákeverni, ügyelve, hogy a keletkező felület sima legyen, majd vízszintes helyen állni hagyni

míg a gipsz megköt, és visszahül szobahőmérsékletre. (Az aljzat készítésénél azért szükséges a gipszhez aktívstenet adni, mert így jól látszanak rajta a fehér állatok.)

A Collembolák természetes környezetükben szerves törmelékeket, gombahifákat esznek, ami labor körülmények között a gipszlap felszínére szórt szárított sütőélesztővel helyettesítő.

A vizsgálathoz azonos korú (14 napos) állatkákat kell felhasználni, ezért szükséges a szinkron populáció létrehozása. Ehhez egy a fenti módon elkészített, megnedvesített gipszlapra 50 db állatot kell helyezni, amelyek 2-3 napon belül lepetéznek. A peték kb. 2 hét (10-12 nap) múlva kelnek ki (ilyenkor egész apró állatkák is megfigyelhetők, ekkor távolítandók el az idősebbek a lapról). Az állatok sérülésmentes áthelyezéséhez egy speciális, saját fejlesztésű edénykét használunk.

Az átrakó edényke alapja egy csapda, amely egy 3 cm átmérőjű, 7 cm magas műanyag gyógyszeres doboz, melynek tetején két lyuk van, és ezekben egy-egy szilikongumi cső helyezkedik el. A két cső átmérője nem azonos, az egyik belső átmérője 2 mm, a másiké 3 mm. Erre a különbségre azért van szükség, mert két 3 mm belső átmérőjű cső esetén az állatok olyan lendülettel érkeznek az edény alján, hogy egy részük nem marad életben, és ez a tesztet meghamisítaná. A különböző átmérőjű csövek lényege, hogy a nagyobb átmérőjű csőben lecsökken az áramlási sebesség, így az ütközés erejét már minden állatka elviseli.

Az átrakó csövei közül a nagyobb belső átmérőjű a hosszabb, hogy a mesterséges aljzatot tartalmazó doboz mellé leállítva annak minden pontját el lehessen vele érni, valamint ez nyúlik mélyebben az edénybe, hogy az átrakóba juttatott állatok azt a légárammal el ne hagyják.

Szükséges eszközök

- 370 ml-es befőttes üvegek
- vegyszer kanál
- táramérleg
- pipetta és pipetta hegy (5 ml-es)

Szükséges anyagok

- csapvíz
- sütőélesztő
- standard OECD talaj. Az OECD talaj összetétele: tőzeg (10%), kaolinit agyag, min. 30% kaolinit tartalommal (20%), iapri kvarc homok (70%)

A vizsgálat menete

- A teszthez 20-20 g légszáraz vizsgálandó talajmintát mérünk be 370 ml-es befőttes üvegekbe. A mintából hígítási sort készítünk OECD talajjal. Kontrollként OECD talajt használunk. Az alkalmazandó hígítási sor:

Minta, g	20	10	5	2,5	1,25
OECD, g	0	10	15	17,5	18,75

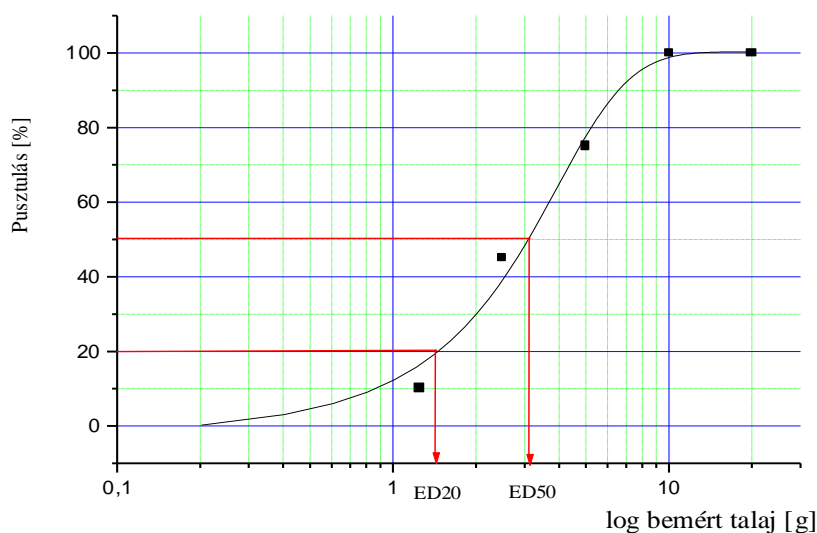
- A mintákat 5-5 ml vízzel megnedvesítjük és 2-2 mg élesztőt szórunk a tetejükre.
- Az üvegekbe 10-10 db állatkát juttatunk a fent leírt átrakóval.
- A teszt edényeket 7 napig sötét, 20-25 °C-os helyen tartjuk, majd kiértékeljük a tesztet.

A teszt kiértékelése:

- A teszt edényekben levő talajt vízzel felszuszpendáljuk.
- Az edényben a talajt óvatosan megkeverjük, hogy az egyben maradt rögök széteszenek, és az állatkák feljuthassanak a víz felszínre.
- A felszínen úszkáló állatkákat megszámloljuk.

A megmaradt illetve elpusztult állatkák számából következtetünk a vizsgált minta toxicitására. A kontroll talajhoz (OECD) viszonyítva megadjuk a vizsgált mintákban a pusztulást %-ban kifejezve.

A hígítási sorból kapott értékeket (kontrollhoz viszonyított gátlási százalék - pusztulás) a bemért talajmennyiségek függvényében ábrázoljuk Origin szoftverrel. A kapott pontokra szigmoid görbét illesztünk, aminek alapján meghatározható a 20%-os és az 50%-os pusztuláshoz tartozó talajmennyiség (ED₂₀ és ED₅₀).



Az ED₂₀ és ED₅₀ értékek grafikus meghatározása

Az ED₂₀ és ED₅₀ értékek alapján összehasonlítjuk a vizsgált mintákat toxicitásuk szempontjából.

A talajminták toxicitásának jellemzése a *Folsomia candida* mortalitási teszt eredménye alapján

ED ₂₀ [g]	ED ₅₀ [g]	Jellemzés
> 20	> 20	Nem toxikus
12-20	16-20	Enyhén toxikus
2-12	4-16	Toxikus
< 2	< 4	Nagyon toxikus

Jegyzőkönyvbe

- Táblázat az életben maradt állatok számával
- Táblázat a pusztulási %-al
- Gátlási görbék, ED₂₀ és ED₅₀ értékek
- Szöveges kiértékelés a „A talajminták toxicitásának jellemzése a *Folsomia candida* mortalitási teszt eredménye alapján” táblázat szerint.

Forrás: Gruiz Katalin, Horváth Beáta, Molnár Mónika: Környezettoxikológia, Műegyetemi Kiadó, 2001.