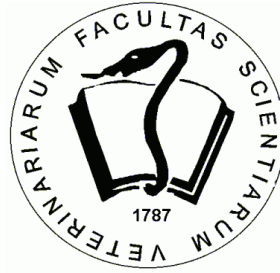


Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Biológiai Intézet



Cím

A Trebon 10 F növényvédő szer generációkon átívelő hatásai a Folsomia candida (Collembola) fajon

Készítette: Szabó Borbála
Biológus MSc

Témavezető: Bakonyi Gábor
egyetemi tanár
SZIE MKK, Állattani és Állatökológiai Tanszék

Budapest
2012

Tartalomjegyzék:

1. Bevezetés:.....	1
2. Anyag és módszer.....	4
Dózishatás kísérlet.....	6
Reprodukciós és táplálékválasztási teszt.....	7
Növekedésvizsgálat	12
3. Eredmények	14
Dózishatás kísérlet.....	14
Táplálékválasztás.....	15
Reprodukciós kísérlet	18
Növekedésvizsgálat	24
4. Diskusszió:.....	25
Dózishatás kísérlet.....	25
Táplálékválasztási kísérlet	26
Reprodukciós kísérlet	26
Növekedésvizsgálat	27
További feladatok.....	28
5. Összefoglaló:	28
6. Summary.....	29
7. Nyilatkozatok.....	31
8. Irodalomjegyzék:	34
9. Köszönetnyilvánítás.....	37
5.Melléklet.....	38

1. Bevezetés:

A növényvédő szerek széleskörű elterjedése maga után vonta a nem kívánt mellékhatások létrejöttét is, melyet a korai ellenőrzési technikákkal még nem tudtak kimutatni. A DDT madártojásokra gyakorolt hatása, illetve a táplálékláncban való felhalmozódása (WALKER et al. 2006) egy ismert és jellemző példa. A benthocarb, chlorpyrifos, fenvalerate, methyl parathion és permethrin vízi élőlényekre gyakorolt erős hatását is kimutatták (SCHIMMEL et al., 1983). Ismert az alanycarb, az organophosphate, a isoxathion és primiphose-methyl káros hatása a parazitoid szervezetekre (MAFI - OHBAYASHI, 2006). Az előzőekben csak néhány különböző csoportokon talált mellékhatást mutattam be példaképpen.

Az első növényvédő szerek megjelenése óta természetesen szigorodtak a növényvédő szerek engedélyezési szabályai. Ennek ellenére lehetetlen lenne az összes élőlényen tesztelni egy szer hatásait. Ahogy az sem várható el, hogy nagyszámú élőlényen teszteljék a szereket, hiszen ez megfizethetlenné tenné a használatukat (DARVAS- SZÉKÁCS 2010).

Az engedélyezési eljárás során maradt hiányokat későbbi eredményekkel pótolják a kutatók. Az én dolgozatomnak is az a célja, hogy a Trebon 10 F nevű növényvédő szer generációkon átívelő hatásait vizsgáljam a *Folsomia candida* Willem 1902 (Hexapoda, Collembola, Isotomidae) ugróvillás fajon, mert ilyen vizsgálatokat eddig még nem végeztek.

Az ugróvillások világszerte elterjedtek. Az óceánok és a tengerek nyílt vizein kívül mindenütt előfordulnak. Fontos tagjai a lebontó közösségeknek (HOPKIN, 1997, DÁNYI, TRASER 2007), továbbá fontos táplálékai a talajlakó ragadozóknak, terjesztik a mikorrhiza gombákat, illetve szabályozzák azok szaporulatát (DÁNYI- TRASER 2007). Ez a csoport nem szerepel a növényvédő szerek engedélyezési procedúrájában (DARVAS-SZÉKÁCS 2010). Mint nem célszervezetet, és a talaj életében jelentős állatcsoportot érdemes megvizsgálni ökotoxikológiai szempontból.

A Trebon 10 F növényvédő szer egy általánosan használt inszekticid, melyet széles körben használnak a gyakori kártevők, például tetvek, molyok ellen. Használatos gyümölcsösökben, út menti fákban, búzán és kukoricán. Az utóbbi két növényfaj jelentős részét teszi ki a magyar mezőgazdasági termelésnek. A szer használata 2019-ig engedélyezett az Európai Unióban (MITSUI CHEMICALS). Mindezt érdemes megvizsgálni a szer hatását ugróvillásokon is.

A piretroidokat elsőként a krizantémfélék virágporából készítették és használták rovarölőszereknek. Általánosságban elmondható a csoportról, hogy az idegrendszer ioncsatornáit támadja. Azonban ma is igen jelentősek, mivel az állandó testhőmérsékletű

állatokban gyorsan bomlik vagy kiválasztódik, illetve az emlősök idegrendszerét védi a mielinhüvely. (DARVAS-SZÉKÁCS 2010)

A peszticideknek gyakran vannak nem kívánt hatásai a nem célszervezetekre. A hatások lehetnek akutak és krónikusak is. Az akut toxicitás általában egyszeri meghatározott idejű kitétség következménye, mely általában az állat pusztulásával jár. Különösen veszélyeztetettek a vízi szervezetek és a beporzó rovarok, de ártalmas lehet az ökoszisztémákra azáltal is, hogy egyes ragadozó fajok között okoz pusztulást. (DARVAS-SZÉKÁCS 2010)

A krónikus toxicitás alatt hosszú kitétség melletti hatásokat értjük. Gyakran szubletális formában jelennek meg. Krónikus hatás sokféle lehet. Okozhat a peszticid mutációt, akár a DNS károsításán keresztül vagy lehetnek teratogén hatásai, esetleg a hormonháztartást boríthatja fel, de tönkretelheti vagy megzavarhatja az immunrendszert, idegméregként viselkedhet, és szaporodásbiológiai zavarokat is okozhat. Az utóbbit előidézhetheti akár a gametogenezis, akár az embriogenezis gátlásával/zavarásával. (DARVAS-SZÉKÁCS 2010)

Az irodalomban több példát találunk szubletális hatások vizsgálatára. Az ugróvillásoknál a szubletális hatások vizsgálatokor általában a növekedést és a reprodukciós sikert vizsgálják (FOUNTAIN-HOPKIN, 2001, SCOTT-FORDSMAND et al., 1999; BUR et al. 2010; NURSITA et al., 2005; STAEMPFLI et al, 2007; CROUAU-MOIA, 2006; FOLKER-HANSEN et al., 1996), de előfordulhat, hogy más végpontot vizsgálnak, például különböző lipid és fehérjék arányát (STAEMPFLI et al, 2007).

A növekedésvizsgálatok fontosságát mutatja SCOTT-FORDSMAND et al., (1999) munkája, melyben a nikkelnak való kitétség csökkentette a *Folsomia fimetaria* (Collembola) faj juvenilis egyedeinek maximális méretét körülbelül 10 %-kal. A *Proisotoma minuta* (Collembola) fajról megállapították (NURSITA et al., 2005), hogy nehézfém szennyezés (kadmium, cink, ólom, réz) esetén az egyedek mérete szignifikánsan kisebb volt. *Folsomia fimetaria* (Collembola) fajon kimutatták (FOLKER-HANSEN et al., 1996), hogy a dimethoate inszekticid csökkentette az állatok átlagos hosszát, viszont a *Folsomia candida* (Collembola) fajon a reprodukció csökkenését és a növekedés enyhe stimulálását tapasztalták dinoseb inszekticid kezelés hatására (STAEMPFLI et al, 2007).

A generációkon átívelő hatás jelentős tényező, hiszen ha több generáció fitneszét is rontjuk letális vagy szubletális hatásokkal, akkor az egyszeri szennyezésnél súlyosabb károkat okozhatunk a nem célfajok populációiban. Megfigyelték állatoknál és növényeknél is, hogy a szülőt ért hatások befolyásolhatják az utódok fejlődését, azon környezet hatások mellett, melyek az utódokat érik (MOUSSEAU-FOX, 1998 IN HAFER, 2011).

A generációkon átívelő hatásokra bizonyíték HAFER et al. (2011) cikke, melyben a táplálék elérhetőség hatásait vizsgálták három generáción keresztül *Folsomia candida* fajon. Kimutatták, hogy anyai és nagyanyai hatások is befolyásolják az életmenet-stratégiát. Hasonló eredményt kapott CAMPICHE et al. (2007). Növekedés gátló inszekticidekkel (methoprene, fenoxycarb, teflobenzuron, precocene II) kezelték *Folsomia candida* fajt és kimutatták, hogy szignifikáns növekedés van a mortalitásban, illetve csökkenés az utódok számában, amennyiben teflubenzuronnal vagy methoprene-nel kezelték őket. A methopren EC_{50} értéke az F0 generációban 162mg/kg volt, az F1 generációban 191 mg/kg. A teflubenzuron EC_{50} értéke egybeesett a legtöményebb koncentrációval (0,12 mg/kg). Rezisztencia alakult ki az *Orchesella cincta* ugróvillás faj esetében a kadmiummal szemben (STERENBORG-ROELOFS, 2003). A piretroidok, ahová a Trebon is tartozik, a rovarok idegsejtjein az ioncsatornákat blokkolják. Ezért a vizsgálatom hipotézise az volt, hogy a *Folsomia candida* túlélése, reprodukciós sikere, növekedése és táplálékválasztási sikere jelentősen csökken piretroidok jelenlétében, mivel az ugróvillások közeli rokonai a rovaroknak (TIMMERNMANS et al. 2008).

Vizsgálataim során ki kívántam deríteni egy hosszú ideig engedélyezett szer, a Trebon 10 F néhány mellékhatását egy, a talajok életközösségeiben igen fontos szerepet betöltő ugróvillás fajon (*F. candida*), különös tekintettel a generációkon átívelő hatásokra.

Célom volt:

- Dózishatás-kísérlet segítségével kvantifikálni a Trebon hatásait a mortalitásra és utódszámra.
- Három generáción átívelő táplálékválasztási teszttel fel kívántam deríteni a Trebon által kiváltott táplálékpreferencia változásokat.
- A két generációs reprodukciós vizsgálattal a Trebon peteszámra és peteméretre gyakorolt hatását akartam megismerni.
- Növekedésvizsgálattal kimutatni a szer által okozott dózisfüggő hatásokat.

2. Anyag és módszer

A Trebon 10 F növényvédő szer, használata 2019-ig engedélyezett Európában. Széleskörben használt növényvédő szer. Használják gyümölcsösök, kalászosok, kukorica és út menti fák védelmére. Inszekticid, melynek hatóanyaga az etofenprox. Ez a vegyület egy piretroid, ami állandó testhőmérsékletű állatokban gyorsan bomlik, UV érzékeny (DARVAS-SZÉKÁCS, 2006). Hatását az axonikus idegvégződések klór ioncsatornáin fejt ki, tartós ingerületet létrehozva (FAO 2007). Tárolhatósága kiváló, mivel 0 °C +/- 2°C hőmérsékleten 7 napig tárolva semmilyen ülepedés vagy olajos kiválás nem tapasztalható, és 54°C +/- 2°C hőmérsékleten 14 napig tárolva 5% -nál kevesebb hatóanyag veszteséget tapasztaltak (FAO 2007). A következő kártevők ellen ajánlott: *Nilaparvata lugens*, *Laodelphax striatellus*, *Nephotettix nigropictus*, *Cnaphalocrosis medinalis*, *Lissorhoptrus oryophilus*, *Leptocorisa sp.*, *Pieris rapae*, *Myzus persicae*, *Bermista tabici*, *Thrips tabici*, *Phyllocnistis citrella*, *Psylla pyrisuga*, *Cydia pomonella*, *Grapholita molesta*, *Empoasca sp.*, *Aphis gossypii*, *Eurvoaster sp.*, *Scirtotrips dorsalis*, *Empoasca onukii*, *Lymantria dispar*. A talaj mély rétegeibe nem mosódik le. A vízi élőlényekre erősen mérgező. Bomlási félideje 1-3 hét aerob talajban. Az élelmezés-egészségügyi várakozási idők (PHI) az 1. táblázatban láthatók (MITSUI CHEMICALS).

1. táblázat: A Trebon 10F egészségügyi várakozási ideje napokban

Növény	PHI (napok)	Növény	PHI (napok)
Rizs	21	Paprika	1
Gabonafélék	14	Paradicsom	1
Kukorica	7	Uborka	1
Krumpli	7	Dinnye	3
Szója	14	Káposzta	3
Borsó	1	Retek	21
Cékla	14	Saláta	14
Citrusfélék	14	Dohány	-
Tea	21	Dísznövények	-
Padlizsán	1		

Modell állatnak a *Folsomia candida* Willem 1902 (Collembola) fajt választottam, mivel széles körben elterjedt a Föld szervesanyag-gazdag talajaiban. Fontos szerepet tölt be sok életközösségben, a talajok anyagforgalmában. A laboratóriumi tenyészet könnyen fenntartható, amiatt hogy szűznemzéssel szaporodik (ennek oka a Wollbachia baktérium fertőzés) (FOUNTAIN-HOPKIN, 2005). A szennyező anyagokat felveheti az epidermiszen, a hasi tömlőn (ventrális tubulus) és a táplálékon keresztül (PETERSEN et al. 1997).

A törzstenyészet a Szent István Egyetem Állattani és Állatökológiai Tanszék laboratóriumából származott. A tenyészetet 9,2 cm átmérőjű és 1,3 cm magasságú Petri csészében tartottam. A csésze alján aktív szénrel kevert gipsz (20 g aktív szén, 200 g gipsszel keverve és 200 ml vízzel hígítva) kb. 1 cm magasságban volt elhelyezve (GOTO 1960). A tenyészetet instant szárított élesztővel tápláltuk hetente egyszer. A tenyészeteket $20 \pm 0,2$ °C-on termosztátban tartottuk.

A kísérletekhez standard OECD talajt használtam (OECD 232), mely 74% kvarchomokot, 20% kaolint, 5% tőzeget és a pH beállításához ~1% CaCO_3 -t tartalmaz.

A talaj vízkapacitását úgy mértem meg, hogy 50-50 g talajt három üvegcsőbe helyeztem. Az üvegcsövek alját szűrőpapírral lezártam. Azután vízfürdőbe helyeztem a csöveket. A vízfürdő vízszintje megegyezett a talaj magasságával. Egy óra múlva a csöveket óvatosan kivettem a vízfürdőből és nedves homokra helyeztem át, melyen három órán át hagytam állni. Ezután az üvegcsőben lévő talaj tömegét lemértem és állandó hőmérsékleten (105 °C) kiszáritottam. A kiszáradt talaj tömegét, illetve a használt üvegcsöveket ismét lemértem. A három cső adatait átlagoltam. Ez alapján a következő képlettel ki lehetett számítani a talaj vízkapacitását:

$$\text{WHC} = ((S-T-D)/D) * 100,$$

ahol S a nedves talaj tömege, T az üvegcsőé, D pedig a száraz talaj tömege (OECD 232).

Ezzel a módszerrel kiszámítva, a talaj vízkapacitása 18,22 % lett, ami a használt 30 g talaj esetén 5,5 ml vizet jelentett.

A mesterséges talaj pH-értékét Mettler Toledo Education Line műszerrel ellenőriztem. 4-4 g mesterséges talajt raktam 3 kémcsőbe, melyet 2 nappal a teszt előtt előnedvesítettem 6 ml 1 M KCl oldattal. Az előnedvesítés után minden kémcsövet 5 percig Vortex-szel összeráztam annak érdekében, hogy a mérés kezdéséig a pH tökéletesen beálljon. Ezután két nappal a pH-mérőt behelyeztem a kémcsőbe és megvártam, míg a kijelzőn fél percig nem változik a pH-érték. Ezt az értéket tekintettem a végleges pH-nak. Az említett lépéseket minden kémcsövön

elvégeztem. A három értéket átlagoltam. A pH megfelelőnek bizonyult (pH = 7,29), így nem igényelt a talaj kalciumkarbonáttal vagy szerves savakkal való pH korrekciós kezelést.

Dózishatás kísérlet

A dózishatás kísérlet célja az volt, hogy kiderítsem, van-e a mortalitásnak és a reprodukciónak koncentráció-függése. Ezt a kísérletet az OECD ugróvillás reprodukciós teszt (OECD 232) alapján végeztem, annyi változtatással, hogy az expozíciós idő nem 28 nap, hanem 20 nap volt, mivel ennyi a Trebon 10 F bomlási félideje.

Nyolc koncentrációt (V/V) használtam, 1,8 szoros hígítási léptékkel. Minden koncentrációból öt ismétlést készítettem. A kontroll esetében tíz ismétlést használtam.

A kísérletben használt koncentrációkat a 2. táblázatban látható adatok alapján számítottam ki.

2. táblázat: A Trebon 10F szántóföldi kiszórási koncentrációi a szer dobozán megadott információk szerint

Növény	Vízmenyiség	Trebon mennyiség
Alma	700-1000 l	0,5-1 l/ha
Szőlő	1000 l	0,5-1 l/ha
Kalászosok	300-400 l	1 l/ha
Út menti fák	700-1000 l	0,5-1 l/ha
Díszfák, erdő	600-1000 l	0,5-1 l/ha
Kukorica	400-600 l	0,5 l/ha

A kísérletben alkalmazott nyolc koncentrációt úgy számoltam ki, hogy a kalászosokra kiszámolt 1 l/ha koncentrációt tekintettem a középső értéknek. A többi értéket úgy kaptam meg, hogy háromszor osztottam a kalászosok esetében szántóföldre átlagosan kiadott koncentráció (1 l/ha) értékét 1,8-dal (ebbe beleesett a fákon és gyümölcsösökön használt koncentráció is) és négyszer szoroztam 1,8-dal.

A nyolc koncentráció a következő volt, liter/hektár megadva: 0,171 l/ha, 0,309 l/ha, 0,556 l/ha, 1 l/ha, 1,8 l/ha, 3,28 l/ha, 5,832 l/ha és 10,497 l/ha.

A dózishatás kísérletben 30 g nedves, Trebonnal kevert mesterséges talajra raktam edényenként 10-10 darab 12-14 napos állatot. A műanyag edények mérete a következő volt: 5 cm magas, 5,3 cm alapátmérő és 6,6 cm felső átmérő. Az expozíciós idő 20 nap volt. Az edényeket hetente egyszer felnyitottam etetés és levegőztetés céljából. Az expozíciós idő végén az edényeket vízzel áraszottam el, óvatosan összekevertem a talajjal és megszámláltam a felszínre feljövő adult és juvenilis állatokat.

Az eredményeket általános lineáris modellel, ANOVA módszerrel, R Statisztikai programmal (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008) elemeztem. Két modellt építettem. Az egyikbe az egyedszám koncentrációtól való függése került, a másodikba pedig az utódszám koncentrációtól való függése.

Reprodukciós és táplálékválasztási teszt

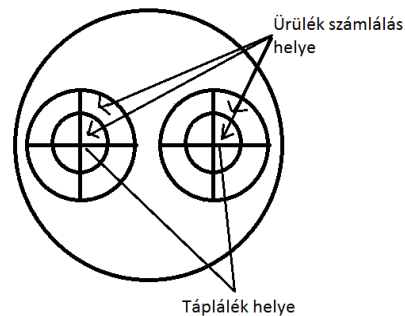
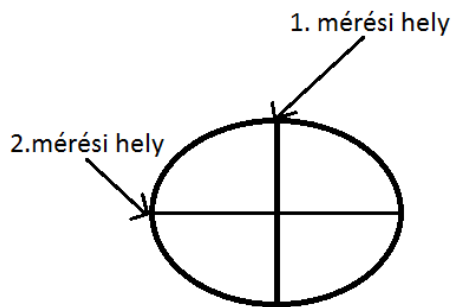
A dózishatás kísérlet eredményei alapján és a gyakori használat miatt a 0,309 l/ha koncentrációt választottam további munkára, vagyis a gyümölcsösöknél és a fáknál használatos koncentrációt. Az előbb említett átlagos koncentrációval, a tizedével és a tízszeresével egy szülő-utódgenerációra kiterjedő (1) reprodukciós és (2) táplálékválasztási kísérletsorozatot végeztem.

A könnyebb megértés végett előbb az alap kísérleteket mutatom be külön-külön, majd az elrendezést is.

A reprodukciós tesztben (1) mind a három koncentráció esetében 90 darab, 10-12 napos állatot raktam Trebonnal kevert standard OECD talajra. Itt 20 napig tartottam az állatokat. Egy kontroll, szer nélküli csoportot is tartottam vízzel kevert mesterséges talajon. 20 nap után a talajt óvatosan kiborítottam egy nagy Petri csészére és a rögöket óvatosan szétválasztva kerestem meg az állatokat. Véletlenszerűen kiválasztottam 30 egyedet minden koncentrációból. Kiraktam őket aktív szenes, gipszes Petri csészékbe (ld. előbb). Az átrakással indukáltam a peterakást. Egy Petri csészébe egy állat került, mindegyik Petri csésze egyedi azonosítót kapott. Az állatokat instant élesztővel tápláltam.

A 9. napon a Petri csészékben lévő petéket egy nedves ecsettel finoman szétterítettem majd sztereomikroszkóp alá tettem (Olympus SZH10) és mikroszkópra csatlakoztatható Olympus C7070 widezoom fényképezőgéppel és Olympus C5060 ADL optikával lefényképeztem. A képeken minden petének adtam egy számot, majd Excel programmal VÉL függvénnyel mindegyik mellé generáltam egy random számot. A tíz legkisebb számot kapó petét mértem

minden Petri csészéből. A méréseket ImageJ nevű ingyenes szoftverrel (ABRÀMOFF et al.,2004) végeztem. A pete legnagyobb és legkisebb, egymásra merőleges átmérőjét mértem meg. A mérési pontok az 1. ábrán láthatóak.



1. ábra. Petén végzett mérések helye

2. ábra: A táplálékválasztási teszt a táplálék helye (belső kör területe) és az ürülék számlálás helye (külső kör területe)

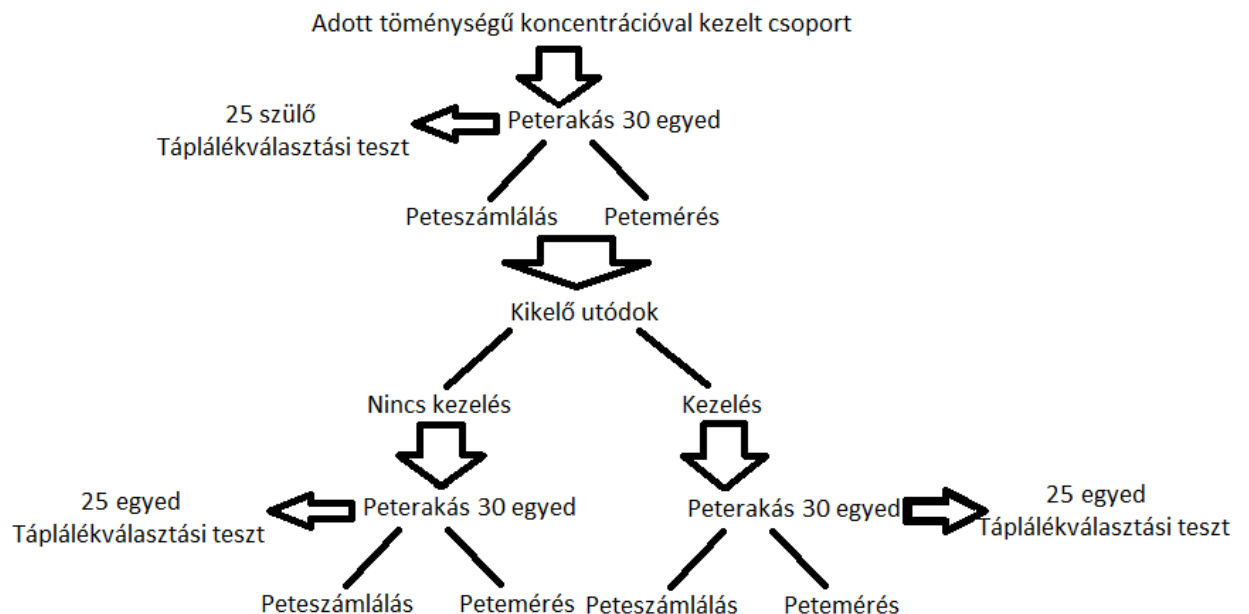
A táplálékválasztási tesztet (2) annak érdekében végeztem el, hogy a Trebon hatóanyagának az etofenproxnak a viselkedésre gyakorolt hatásait vizsgáljam. A hatóanyag piretroid, ami egy idegméreg, így várható volt a viselkedési válasz. A kísérletet mini Petri csészékben végeztem, amelyek átmérője 4,1 cm és magassága 1 cm volt. A Petri csészébe egy réteg nedves szűrőpapírt helyeztem a páratartalom fenntartására, illetve egy a táplálékok helyét kijelölő nedves papírt (2. ábra). Táplálékkul Zamora kukoricafajta levéldarálékát és a tenyészetekben szokásos táplálékkukat, az instant élesztőt kapták. A kétféle táplálékot a kísérlet elején a 2. ábrán látható helyekre helyeztem, s a kísérlet kezdetén az állatot a Petri csésze közepére helyeztem, hogy egyenlő eséllyel juthasson el mindkét táplálék típushoz. Egy Petri csészében egy állat volt egy hétig, majd a jelölő körökön belül lévő ürülékeket megszámláltam tápláléktípusonként (BAKONYI et al, 2011).

A reprodukciós és táplálékválasztási tesztben faktoriális kísérleti elrendezést alkalmaztam (3. ábra). Minden kezelésben (koncentrációnál és generációnál) három végpontot mértem. Végeztem egy táplálékválasztási tesztet (1), peteszámlálást (2) és petemérést (3) is.

3. táblázat: a kísérleti elrendezése a reprodukciós és táplálékválasztási teszteknek: P: szülőgeneráció, F1: első utódgeneráció, F2: második utódgeneráció, 0,1: leghígabb koncentráció, 1: szántóföldi koncentráció, 10: legtöményebb koncentráció, 0P: Petri csészén nevelt kontroll, 0T: talajon nevelt kontroll, N: csak a szülők kaptak kezelést, az utódok nem, K: a szülők és az utódok is kaptak kezelést

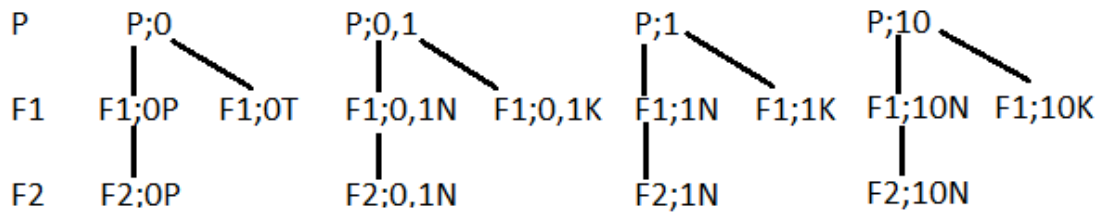
Generációk	Petri csészén nevelt Kontroll	Talajon nevelt Kontroll	Kezelt 0,1	Nem Kezelt 0,1	Kezelt 1	Nem Kezelt 1	Kezelt 10	Nem Kezelt 10
P	P;0		P;0,1		P;1		P;10	
F1	F1;0P	F1;0T	F1;0,1K	F1;0,1N	F1;1K	F1;1N	F1;10K	F1;10N
F2	F2;0P			F2;0,1N		F2;1N		F2;10N

A szülőgenerációt kezeltem Trebonnal az említett három koncentrációban. A kezelt szülőgenerációból 25 egyedet válogattam a táplálékválasztási teszthez, illetve a kikelő utódok közül is válogattam 25 egyedet, ugyancsak a táplálékválasztási teszthez. A szülő (P) generációnak volt egy nem kezelt, kontroll csoportja. Illetve az utódgenerációban (F1) volt egy Petri csészén nevelt (F1;0P) kontroll a nem kezelt csoportokhoz és egy talajon nevelt kontroll csoport (F1;0T) a kezelt csoportok kontrolljaként. Ez az elrendezés látható a 3. táblázatban és a 3. ábrán.



3. ábra: A fő kísérlet kísérleti elrendezése

Táplálékválasztás kísérleti elrendezése



4. ábra: A táplálékválasztási kísérlet elrendezése: P: szülőgeneráció, F1: első utódgeneráció, F2: második utódgeneráció, 0,1: leghígabb koncentráció, 1: szántóföldi koncentráció, 10: legtöményebb koncentráció, OP: Petri csészén nevelt kontroll, OT: talajon nevelt kontroll, N: csak a szülők kaptak kezelést, az utódok nem, K: a szülők és az utódok is kaptak kezelést

Az utód-generációból (F1), minden kezelésből véletlenszerűen kiválogattam 30-30 egyedet és a három koncentrációban Trebonnal kezelt mesterséges talajon tartottam őket 20 napig, a korábban leírt módon (F1;0,1K, F1;1K; F1;10K) Ezzel párhuzamosan minden kezelésből kiválogattam olyan állatokat, amelyeket Petri csészén tartottam (F1;0,1N, F1;1N, F1;10N). A 20 nap eltelte után kiválasztottam, koncentrációnként 30 állatot peterakásra a kezelt csoportból, illetve a kezeletlen utódok közül is választottam koncentrációnként 30-at petezéshez. Ehhez a kísérlethez tartottam egy kontroll csoportot mesterséges talajon (lásd a korábban leírt módon), amely talajt nem kezeltem Trebonnal. Emellett Petri csészében is volt egy 30 egyedből álló nem kezelt, kontroll csoport, a talaj hatásának kiszűrésére.

Az utódgenerációval végzett kísérletben így nyolc csoportom volt (3. táblázat, F1 generáció sora). Azok a csoportok, amelyeknek a szüleit és magukat is különböző koncentrációjú növényvédő szerrel kezeltem és azok a csoportok, amelyeknek a szüleit kezeltem, ők magukat nem. Ezen kívül egy Petri csészében és egy talajon nevelt kontroll csoportot is vizsgáltam.

Az ismertetett beállítás összesen a szülőgenerációban 120 Petri csészényi reprodukciós tesztet és 200 mini Petri csészényi táplálékválasztást jelentett. Az első generációban 240 Petri csésze és 400 mini Petri csésze fenntartását és kísérletes lebontását jelentette. A fotók közül a szülőgenerációban 112 fotót (850 pete méretét), az első generációban 407 fotót (1210 pete méretét) elemeztem. A fotók száma azért térhet el a Petri csésze számoktól, mivel az állatok el is pusztulhattak, vagy nem raktak petét határidőre, illetve az egy Petri csészében lévő peték nem mindig fértek rá egy fotóra a megfelelő nagyításnál.

A fentiekén kívül végeztem még a nem kezelt első generációs állatok utódaival egy táplálékválasztási kísérletet, annak érdekében, hogy kiderítsem, hogy két generáció elég-e a növényvédő szer hatásának megszűnéséhez. (3. táblázat utolsó sor, F2 és 4. ábra).

A táplálékválasztási kísérlet eredményeit páros t-próbával elemeztem, kétoldali hipotézissel (BAKONYI et al. 2011). Minden egyedről feljegyeztem, hogy mennyi ürülékkel találtam az élesztő és a kukorica táplálékforrás mellett. Ezt az adatot használtam a próbához. Így megkaptam, hogy az egyed melyik élelmet preferálta, illetve a két táplálék közötti különbségekre, kísérletenként egy-egy konfidencia intervallumot állapítottam meg, illetve az átlagos különbség nagyságát a két táplálékforrás mellett talált ürülék szám között.

A konfidencia intervallumokat többféleképpen ábrázoltam. Az ábrákat R statisztikai programmal készítettem. Egy táblázatba kigyűjtöttem az átlagokat és a tesztből nyert konfidencia intervallum alsó és felső határát. A plotrix (LEMON, 2006) könyvtárban található, plotCI() függvényt alkalmaztam. Az intervallum középpontját (átlag), illetve az intervallum terjedelmét kell megadni. Az intervallum terjedelmét úgy kaptam meg, hogy a felső intervallumhatárból kivontam az átlagot.

A szülőgeneráció által rakott peték számának és méretének elemzése több modell segítségével történt.

A peteátmérőket úgy transzformáltam, hogy a két átmérőt összeszoroztam, majd gyököt vontam belőle. Ennek az az értelme, hogy az új adat olyan, mintha a peték tökéletesen kerek lennének. Ebben a módszerben mindkét adat szerepel, szemben azzal a módszerrel, mintha csak nagyobb átmérőt használnánk. Ha kerekre transzformáljuk a petét, akkor ennek ez az értéke a transzformált átmérő (TA).

A koncentráció logaritmusát illesztettem a modellekbe. A logaritmus értékek miatt a modellben kevesebb összehasonlítást kellett alkalmazni. Ezzel a módszerrel nem kaptam meg minden koncentrációra külön-külön a p-értéket és becsléseket, hanem a koncentráció növekedés hatására kaptam egy p-értéket és egy becslést a hatás nagyságára. Ezzel a módszerrel arra vonatkozóan kaptam egy statisztikai becslést, hogy a tízedére csökkentett, vagy tízszeresére növelt koncentráció szignifikánsan megváltoztatja-e a peteátmérőt.

A peteszám összefüggését a koncentrációval először általános lineáris modellel vizsgáltam. A modell varianciája nagyon instabil volt, ezért nem illeszkedett jól a modell, és szignifikáns eredményt sem adott. Ezért a következő lépésben grafikusán ellenőriztem hegedűábrákkal, hogy van-e különbség a koncentrációk szerint, illetve egy egzakt tesztet is elvégeztem és egy Wilcoxon rang próbát is. Mivel a grafikus elemzés és a Wilcoxon - Mann-Whitney -

rangpróba sem hozott szignifikáns eredményt, ezért elvégeztem egy minta elemszám becslést is, arra vonatkozóan, hogy mekkora mintával kellett volna dolgozni ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kapjak.

A peteátmérő (TA) tesztelésénél a modellben a koncentráció és a peteszám hatását teszteltem. Mivel egy Petri csészéből 10 petét mértem le, ezért feltételeztem, hogy az adatok nem függetlenek. A függetlenség problémájának kiküszöbölésére kevert modellt használok fix és random hatásokkal, az nlme csomagból (PINHEIRO et al., 2012).. Az egyedek azonosítóját használtam random hatásnak, mert ez mutatja meg, hogy azonos Petri csészéből származnak a peték. A random hatás modell megmondja, hogy a különböző forrásokból mennyi variancia származik. A modell kiszámolja a standard deviációt, a random hatást adó csoporton belül és a teljes mintában. Amennyiben a két deviáció nem tér el jelentősen, akkor az adatok függetlennek tekinthetők.

Ellenőriztem, hogy a peteátmérők aránya függ-e a kísérletben használt koncentrációktól, vagy csak a peteátmérőtől függ. Tudjuk, hogy ha fejlettebb az embrió, kevésbé gömb alakú a pete (HOPKIN 1997), így ettől a hatástól mindenképpen függ a peteátmérők aránya. Ezt szintén random hatás modellel elemeztem, a koncentráció függvényében. Ezzel megkaphatjuk, hogy van-e valamilyen torzító hatása a szernek az átmérők arányára.

Az első generáció esetében megvizsgáltam, hogy van-e különbség a peteszámában és a peteátmérőben azon csoportok között, amelyekben csak a szülők kaptak kezelést, de az utódok nem, és amelyekben a szülők és az utódok is kaptak kezelést, mivel szignifikáns ($p < 0,001$) különbség volt a kezelt és nem kezelt utódok peteszámában és TA-ban is. Ez az jelenti, hogy más trend uralkodik a két kezeléstípus mellett. Következésképpen külön-külön elemeztem a kezelt és nem kezelt utódok adatait, az előző bekezdésekben a szülői generációknál leírt módon.

Növekedésvizsgálat

A növekedésvizsgálat során 12-14 napos állatokat gipsszel kiöntött Petri csészékbe helyeztem, melyet Trebon oldattal itattam át. Az oldatok a reprodukciós és táplálkozási tesztekben alkalmazott koncentrációkkal megegyezők voltak.

Egy Petri csészébe egy állat került. Mindegyik Petri csésze kapott egy egyedi azonosítót. Koncentrációnként 15-15 állatot használtam. Az állatokat hetente kétszer lefénképeztem a már említett mikroszkóppal és fényképezőgéppel. Két testméretet vettem fel. A fej csápok közötti részétől (homlok) az utolsó potroh szelvény végéig mértem meg minden állat hosszát (1), illetve a test szélességét az első potrohszelvény szélességével (2) jellemeztem. Két

egymást követő fényképet készítettem, hogy az esetleges mozgások, nézetbeli különbségek miatti pontatlanságot csökkentsem. A két mérés átlagát tekintettem az állat hosszának, illetve szélességének. Az adatokat ImageJ programmal elemeztem. A méréseket 20 napig végeztem, hetente kétszer, tehát a kísérlet végén az állatok 32-34 naposak voltak.



5. ábra: A növekedésvizsgálat mérési pontjai. A piros vonalak jelölik a mért hosszúság és szélesség helyét.

A kezelt csoportok kikelő utódait kettéosztottam egy kezelt és egy nem kezelt csoportra. A kezelt csoport tagjai 10-12 naposan (mivel ekkor lehet őket biztonságosan, sérülések nélkül áthelyezni) Trebon oldattal átítatott Petri csészére kerültek, a nem kezelt csoport pedig vízzel átítatott Petri csészébe került. Az utódokon is elvégeztem a hossz- és szélességméréseket hetente kétszer húsz napon át.

Mivel a kontroll csoport kb. egy héttel korábban rakott petét a kezelt csoportoknál, ezért az utódjainak növekedés vizsgálatát is egy héttel korábban kezdtem, hogy tarthassam a 10-12 napos kezdőkort.

Az eredményeket R statisztikai programmal (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008) elemeztem. Első lépésben a koncentrációkat logaritmuskálára helyeztem, hogy kevesebb összehasonlítás kerüljön a modellekbe. Az adatokat kevert modellel elemeztem. Ebben az adatokat a groupedData paranccsal az egyedi azonosítók szerint fűztem egybe, így az egymás után következő növekedési adatok egymás után kerültek. Ezután egy lineáris modellt illesztettem az adattáblára. Elemeztem az állat hosszúság és szélesség növekedésgörbéjének koncentráció függését és a hosszúság-szélesség arányának változását a koncentráció függvényében.

Elégeztem a relatív növekedés vizsgálatát is a következő módon:

$$rn = (h_2 - h_1)/t$$

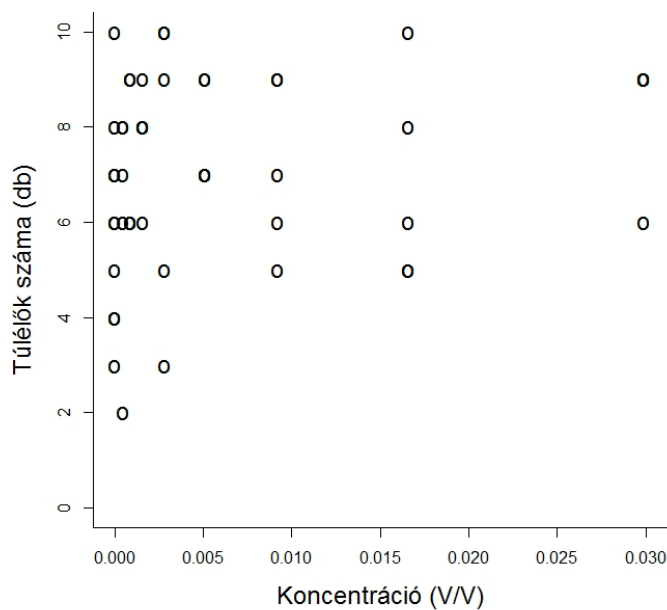
ahol rn : a relatív (egy napra jutó) növekedés mértéke, h_2 : az utolsó alkalommal mért hossz, h_1 : az első alkalommal mért hossz, t : két mérés között eltelt napok száma.

Ezeknek az értékeknek a koncentráció-függését általános lineáris modellel elemeztem. Az elemzést elvégeztem minden kezelés esetében.

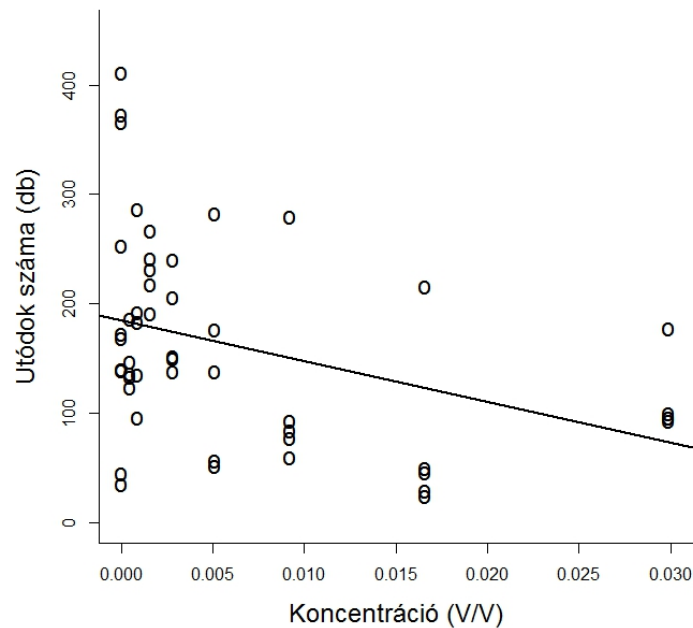
3. Eredmények

Dózishatás kísérlet

A dózishatás kísérlet eredményei szerint a *F. candida* mortalitása a vizsgált dózisokban nem függ a Trebon koncentrációjától ($p=0,113$, 6. ábra). Az utódok száma ezzel szemben erős koncentrációfüggést mutatott ($p=0,007$, 7. ábra).



6. ábra: OECD teszt. A túlélők száma a Trebon vizsgált koncentrációinak függvényében. ANOVA módszerrel elemezve nincs szignifikáns összefüggés a mortalitás és koncentráció növekedése között ($p=0,113$)



7. ábra: OECD teszt. Az utódok száma a Trebon vizsgált koncentrációinak függvényében. ANOVA teszttel kimutatható az utódok számának csökkenése a koncentráció növekedésének hatására ($p=0,007$)

Táplálékválasztás

A szülőgenerációban a kontroll csoport (P;0) a kukoricát preferálta ($p<0,0001$), a tizedesre hígított koncentrációval kezelték (P;0,1) nem válogattak ($p=0,060$), a szántóföldi koncentrációval kezelték (P;1) nem válogattak ($p=0,638$), a tízszeres töménységű koncentrációval kezelték (P;10) az élesztőt preferálták ($p=0,033$).

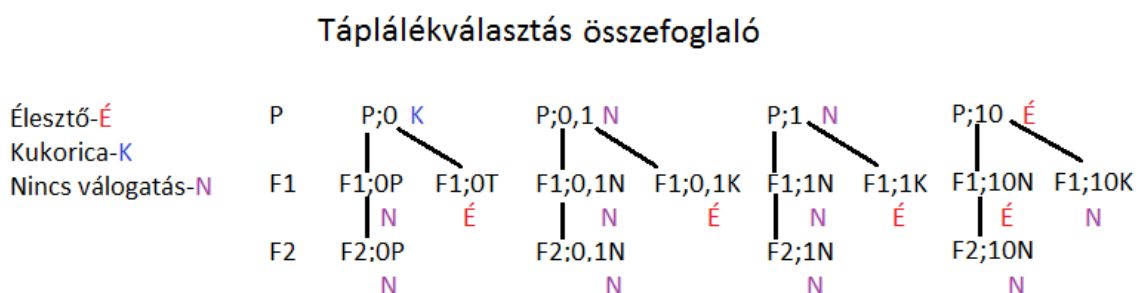
Az első generációs kísérlet nem kezelt csoportjai közül sem a kontroll (F1;0P) ($p=0,707$), sem a tizedesre hígított koncentrációval kezelték utódai (F1;0,1N) ($p=0,258$), sem pedig a szántóföldi koncentrációval kezelték utódai (F1;1N) ($p=0,261$) nem válogattak. A tízszeres töménységű koncentrációval kezelték utódai (F1;10N) az élesztőt erősen preferálták ($p=0,0004$).

Az első generáció kezelt csoportjai közül a tizedesre hígított koncentrációval kezelték utódai (F1;0,1K) az élesztőt preferálták ($p=0,003$), a szántóföldi koncentrációval kezelték utódai (F1;1K) az élesztőt preferálták ($p=0,003$), a kontroll csoport (F1;0T), melyet mesterséges talajon tartottam, nem válogatott a két táplálék között ($p=0,707$). A tízszeres töménységű koncentrációval kezelt csoport (F1;10K) egyedei nem válogattak ($p=0,185$). A

kísérletbe vont egyedek közül sajnos több elpusztult, így a minta elemszám 14-re csökkent, majdnem az eredetileg beállított létszám (25 egyed) felére, ezért ennek a kísérletnek az eredményét fenntartással kell kezelni.

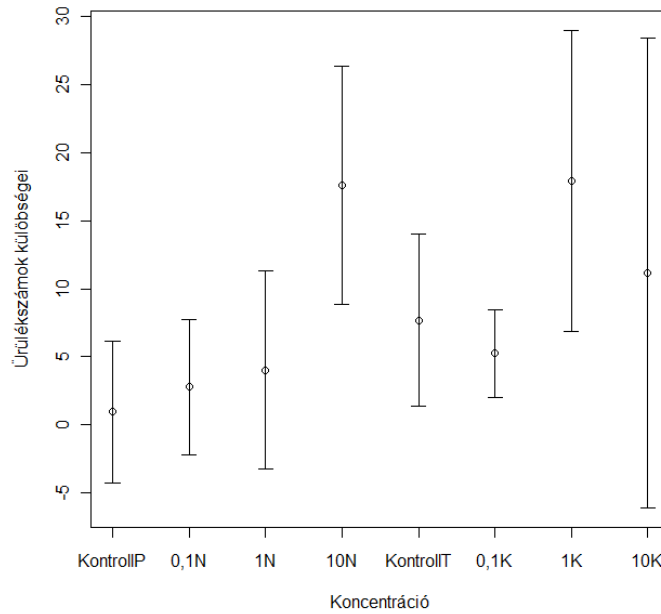
A második generáció kontrolljai (F2;0P) nem válogattak ($p=0,529$), míg a tizedére hígított koncentrációval kezelték unokái (F2;0,1N) nem válogattak ($p=0,231$), a szántóföldi koncentrációval kezelték unokái (F2;1N) nem válogattak ($p=0,988$), a tízszeres töménységű koncentrációval kezelték unokái (F2;10N) sem válogattak ($p=0,8589$).

A táplálékválasztási tesztek összefoglalója a 8. ábrán található.

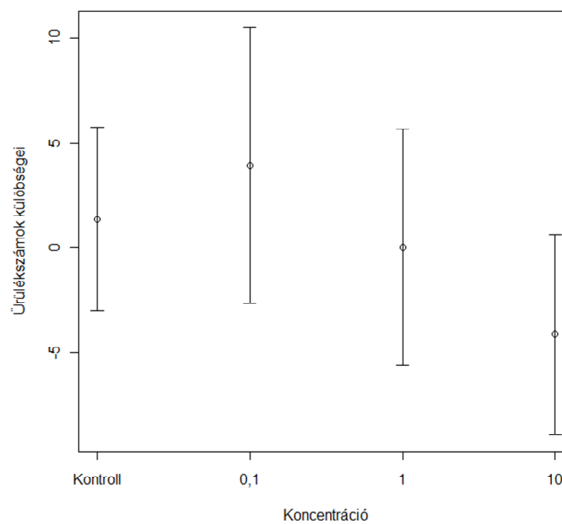


8. ábra: Táplálékválasztás összefoglaló, a koncentráció növekedésével az állatok jobban igénylik az élesztőt, illetve két generáció alatt megszűnik a szer hatása. P: szülőgeneráció, F1: első utódgeneráció, F2: második utódgeneráció, 0,1: leghígabb koncentráció, 1: szántóföldi koncentráció, 10: legtöményebb koncentráció, OP: Petri csészén nevelt kontroll, OT: talajon nevelt kontroll, N: csak a szülők kaptak kezelést, az utódok nem, K: a szülők és az utódok is kaptak kezelést

A táplálékválasztási tesztek elemzéséből nyert 95%-os konfidencia intervallumokból kiderül, hogy a két táplálék körül talált ürülékszám különbségek átlaga a koncentráció növekedése szerint tolódik el (9-10. ábra) a pozitív tartományba, vagyis az élesztő preferencia irányába. A negatív tartomány azt jelenti, hogy a kukoricát preferálják az állatok.



9. ábra: Elsőgenerációs (F1) kísérlet átlagai és 95%-os konfidencia intervallumai. A negatív tartományban lévő intervallumok azt mutatják, hogy a kukoricát preferálták az állatok, a pozitív tartományban lévő intervallumok pedig azt jelentik, hogy az élesztőt preferálták az állatok. (N: Nem kapott kezelést, K: Kapott kezelést, P: Petri csészében tartott, T: Talajon tartott)



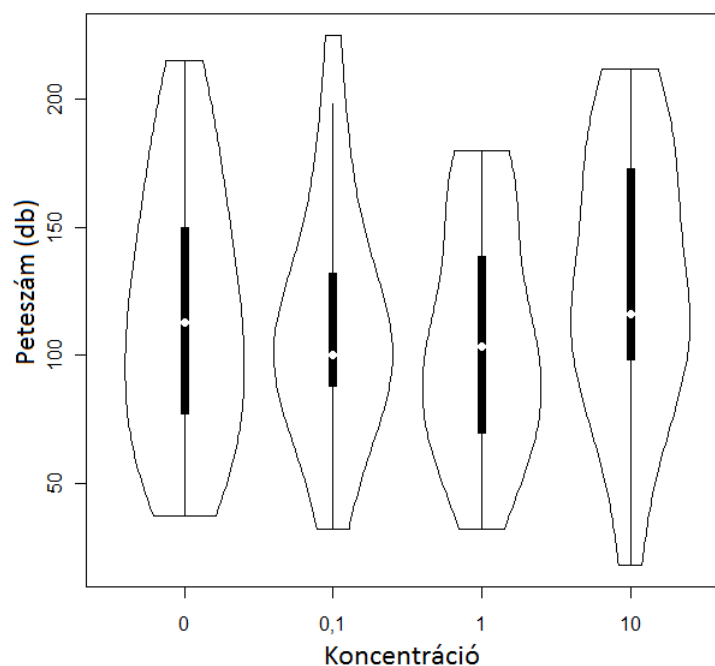
10. ábra: A második generációs táplálékválasztási kísérlet átlagai és 95%-os konfidencia intervallumai. A negatív tartományban lévő intervallumok a kukorica preferenciát, a pozitív tartományban lévőket az élesztő preferenciát mutatják.

Ha az egyforma koncentrációkkal kezelt csoportokat összehasonlítva nézzük az egyes generációk konfidencia intervallumait, akkor kiderül, hogy a kontroll preferenciája eléggé változékony. A hígabb koncentrációval kezelt csoportok (P;0,1, F1;0,1N, F1;0,1K, F2;0,1N) a 0 körül ingadoznak, vagyis nem válogatnak. A szántóföldi koncentráció (P;1, F1;1N, F1;1K, F2;1N) intervallumai már inkább a pozitív tartományba esik. Az első generáció kezelt csoportjainak (F1;1K) intervalluma már egyértelműen a pozitív tartományba esik. A tízszeres töménységű koncentrációval kezelt (P;10, F1;10N, F1;10K, F2;10N) közül a P;10 és F1;10N kezelés állatai az élesztőt preferálták. A F1;10K és F2;10N kezelések esetén nem volt kimutatható preferencia. A szülőgeneráció (P) értékeihez képest az elsőgenerációs utódok (F1) intervalluma jobbra tolódott. Az F1;10K csoporton látszik, hogy a lecsökkent minta elemszám miatt a konfidencia intervallum kiszélesedett. A 10. ábrán láthatjuk, hogy a második generációnál az intervallumok megint 0 köré csoportosulnak.

Reprodukciós kísérlet

A szülőgeneráció peteátmérő és peteszám adatainak általános statisztikai összefoglalója a mellékletben az M1-M4. táblázatban látható. A P;0 csoportban 250 db petét, a P;0,1 csoportban 190 db petét, a P;1 csoportban 220 db petét, a P;10 csoportban 190 db petét, összesen 850 db petét mértem le.

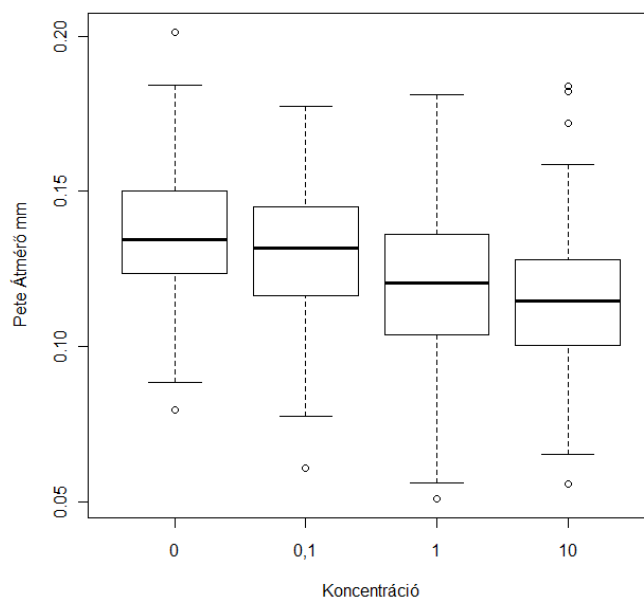
A szülőgenerációnál (P) a peteszámot vizsgálva a koncentráció függvényében általános lineáris modellel, a koncentrációnak nincs szignifikáns hatása ($p=0,287$, standard hiba=12,851). A hegedűábra szerint (lásd 11. ábra) az eloszlások között nincs nagy különbség. A Wilcoxon – Mann-Whitney egzakt teszt is pontosan ugyanezt az eredményt adta ($p= 0,971$). A Wilcoxon teszt által megadott konfidencia intervallumok alapján, a minta elemszámnak huszonötször ekkorának kellene lennie ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kaphassak.



11. ábra: szülőgeneráció (P) által rakott peteszám a koncentráció függvényében. A 0 a kontroll csoport, 0,1 a leghígabb koncentráció, az 1 a szántóföldi koncentráció. A fekete sáv az alsó kvartilis és a felső kvartilis közötti adatokat jelöli, a fehér pötty a mediánt, az egyenes vonal a többi adat kiterjedését jelöli. Erre van rásimítva kétoldalt az adatok eloszlás függvénye. Az ábrán az eloszlások között nincs nagy különbség.

A TA nagyságát a koncentráció és a peteszám függvényében egy interakció nélküli modellel vizsgáltam. Az interakció egyébként nem volt szignifikáns, de elfedte a hatást. A random modell jól illeszkedett, mivel a reziduális standard deviáció (0,018) nem tért el jelentősen a standard deviációtól (0,011). A koncentráció hatása szignifikáns volt ($p < 0,0001$, standard hiba= 0,003). A peteszám hatása is szignifikáns volt ($p = 0,006$, standard hiba= 0,00003).

Ha a Trebon koncentrációnövekszik, az átmérő csökken (lásd 13. ábra)

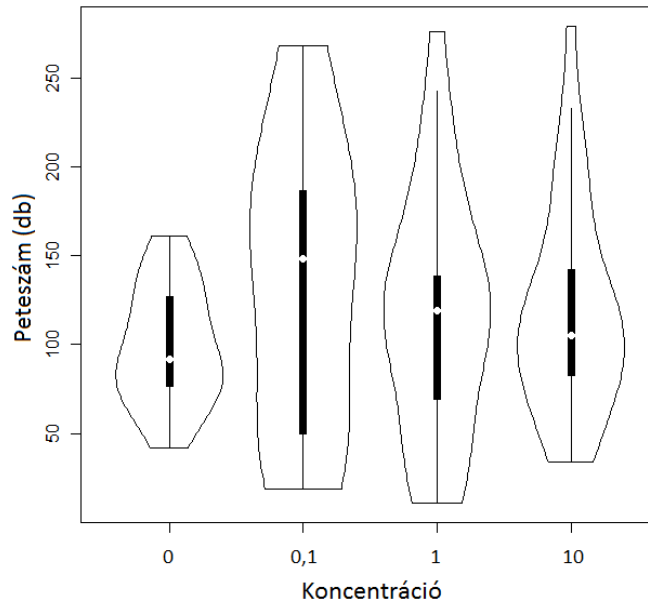


13. ábra: szülőgeneráció (P) peteátmérője csökken a koncentráció függvényében, random hatás modellel elemezve $p < 0,0001$, a 0 a kontroll csoport, a 0,1 a leghígabb koncentráció, az 1 a szántóföldi koncentráció, a 10 a legtöményebb koncentráció.

Az peteátmérők arányát random modellel ellenőriztem. A modellbe a koncentrációt illeszttem. A hatása szignifikáns ($p = 0,036$) volt. Itt sem tért el jelentősen a két deviancia (reziduális standard deviancia: 0,097 és standard deviancia: 0,017).

Az első generáció (F1) peteátmérő és peteszám adatainak általános statisztikai összefoglalója a mellékletben az M5-M12. táblázatokban található. A F1;0P csoportban 240 pete lett lemérve, F1;0,1N csoportban 140 db pete lett lemérve, F1;1N csoportban 270 db pete lett lemérve, F1;10N csoportban 270 db pete lett lemérve, összesen 920 db pete lett lemérve a nem kezelt utódoknál. A F1;0T csoportban 240 pete lett lemérve, F1;0,1N csoportban 260 db pete lett lemérve, F1;1N csoportban 260 db pete lett lemérve, F1;10N csoportban 230 db pete lett lemérve, összesen 990 db pete lett lemérve a kezelt utódoknál.

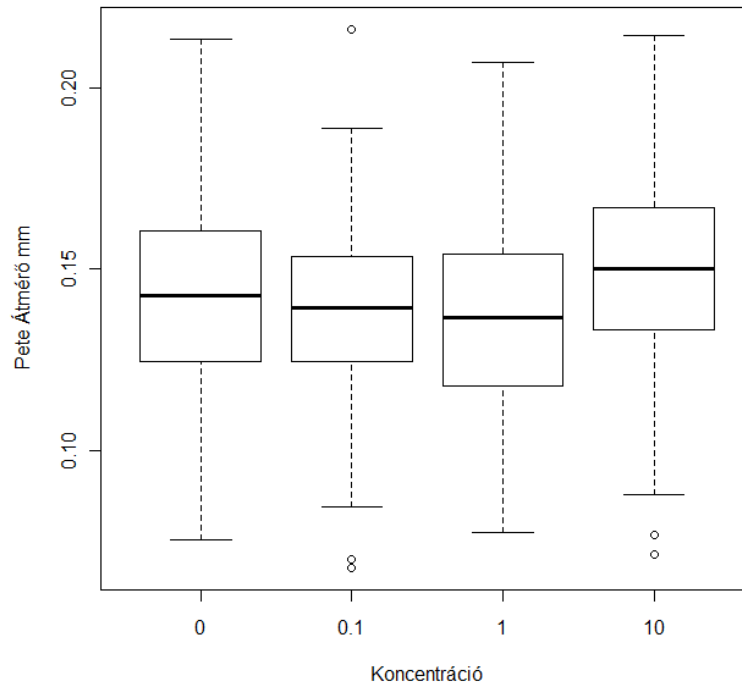
Az első generációnál a peteszámot vizsgálva azon egyedeken, amelyeknek csak a szüleit kezeltem (F1N) a koncentráció függvényében lineáris modellel vizsgálva nem volt szignifikáns hatás ($p = 0,632$, standard hiba=14,651). Amennyiben a hegedűábrát (14. ábra) vizsgáltam meg, ott sem találtam különbséget a különböző koncentrációval kezelt eloszlása között. A Wilcoxon – Mann-Whitney egzakt teszt is ugyanezt az eredményt hozta ki ($p = 0,220$). Az ezek által megadott konfidencia intervallumok alapján, a minta elemszámnak huszonötször ekkorának kellene lennie ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kaphassak.



14. ábra: elsőgeneráció, csak a szülőket kezeltem (F1N), peteszám a koncentráció függvényében, ahol 0 a kontroll csoport, 0,1 a leghígabb koncentráció, az 1 a szántóföldi koncentráció. A fekete sáv az alsó kvartilis és a felső kvartilis között adatokat jelöli, a fehér pötty a mediánt, az egyenes vonal a többi adat kiterjedését jelöli. Erre van rásimítva két oldalt az adatok eloszlás függvénye. Az ábrán az eloszlások között nincs nagy különbség.

A TA nagyságát a koncentráció és a peteszám függvényében vizsgáltam. A random modell jól illeszkedett, mivel a reziduális standard deviáció (0,012) nem tért el jelentősen a standard deviációtól (0,022). A koncentráció hatása szignifikáns volt ($p=0,0031$, standard hiba= 0,003). A peteszám hatása is szignifikáns volt ($p=0,003$, standard hiba= 0,00002).

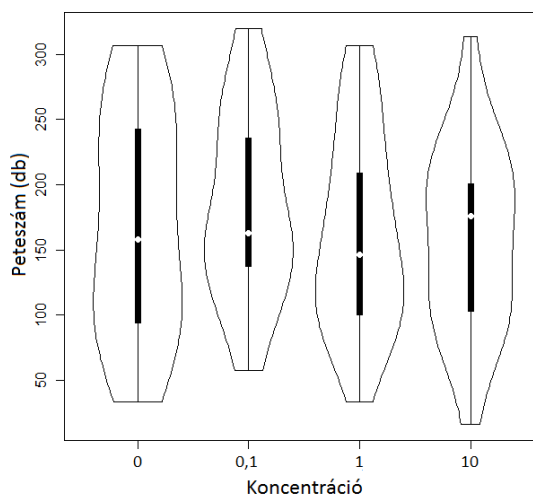
Ha a Trebon koncentráció növekszik, az átmérő is növekszik (lásd 16. ábra), ha a peteszám nő, akkor csökken az átmérő.



16. ábra: elsőgeneráció, csak a szülőket kezeltem (F1N). A peteátmérő a koncentráció függvényében, ahol 0 a kontroll csoport, a 0,1 a leghígabb koncentráció, az 1 szántóföldi koncentráció, a 10 a legtöményebb koncentráció.

Az átmérők arányát random modellel ellenőriztem. A modellbe a koncentrációt illeszttem. Nem volt a koncentrációnak hatása ($p=0,872$, standard hiba=0,009). A reziduális standard deviancia: 0,000007 és standard deviancia: 0,111 volt.

Az első generációnál a peteszámot vizsgálva azon egyedeken, amelyeknek a szülei és maguk is kezelve voltak a koncentráció függvényében (F1K), lineáris modellel vizsgálva nem volt szignifikáns hatás ($p=0,378$, standard hiba=18,473). Amennyiben a hegedűábrát (17. ábra) vizsgáltam meg ott sem találtam különbséget a különböző koncentrációk eloszlása között. A Wilcoxon rangpróba eredménye is azt mutatta, hogy nincsen hatása a koncentrációnak ($p=0,961$), és a Wilcoxon – Mann-Whitney egzakt teszt is ugyan ezt az eredményt hozta ki ($p= 0,963$). Az ezek által megadott konfidencia intervallumok alapján, a minta elemszámnak hatvannégyszer ekkorának kellene lennie, ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kaphassak.



17. ábra: F1 generáció, a szülőket és az utódokat is kezeltem (F1K). A peteszám a koncentráció függvényében, ahol 0 a kontroll csoport, 0,1 a leghígabb koncentráció, az 1 a szántóföldi koncentráció. A fekete sáv az alsó kvartilis és a felső kvartilis között adatokat jelöli, a fehér pötty a mediánt, az egyenes vonal a többi adat kiterjedését jelöli. Erre van rásimítva két oldalt az adatok eloszlás függvénye. Az ábrán az eloszlások között nincs nagy különbség.

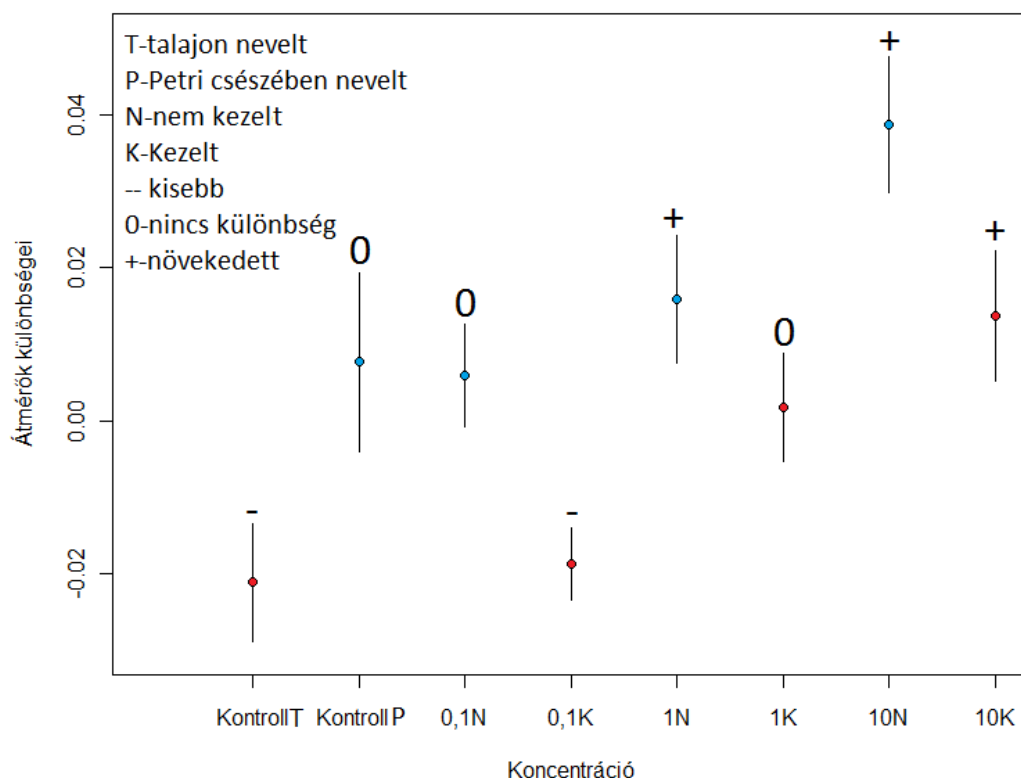
Az átmérőt vizsgálva a koncentráció és a peteszám függvényében a random modell jól illeszkedett, mivel a reziduális standard deviáció (0,010) nem tért el jelentősen a standard deviációtól (0,022). A koncentráció hatása szignifikáns volt ($p < 0,0001$, standard hiba= 0,003). A peteszám hatása is szignifikáns volt ($p = 0,014$, standard hiba= 0,00002).

Ha a Trebon koncentráció növekszik, az átmérő növekszik, míg ha a peteszám nő, akkor az átmérő csökken.

Az átmérők arányát random modellel ellenőriztem. A modellbe a koncentrációt illeszttem. Nem volt szignifikáns a hatás ($p = 0,12$, standard hiba=0,010). A reziduális standard deviancia: 0,008 és a standard deviancia 0,120 volt.

A szülő-utód TA átlagoknál (P) a F1;0P-P;0 esetén nem volt szignifikáns különbség a két csoport átlaga között ($p = 0,1878$). A F1;0T-P;0 csoportok esetében szignifikáns különbség van ($p < 0,0001$), kisebb a TA, mint a szülők esetén. A F1;0,1N-P;0,1 csoportoknál nincs szignifikáns különbség a TA között ($p = 0,0772$), míg F1;0,1K-P;0,1 szignifikáns a különbség a TA átlagai között ($p < 0,0001$), az utódok kisebb petéket raknak. A F1;1N-P;1 csoportoknál szignifikáns a különbség a TA átlagai között ($p = 0,0006$), az utódok petéi nagyobbak. A F1;1K-P;1 csoportok esetén nincs szignifikáns a különbség a TA között ($p = 0,605$) között. A

F1;10N-P;10 csoportok esetén szignifikáns a különbség a TA átlagai között ($p < 0,0001$), az utódok átlagosan nagyobb petéket raktak. A F1;10K-P;10 csoportok esetén szignifikáns volt a különbség TA átlagai között ($p = 0,00340$), az utódok petéi nagyobbak voltak. A fenti eredmények a 19. ábrán láthatóak. Jól látható az ábrán, hogy minél töményebb koncentrációval lettek kezelve az egyedek, annál nagyobb a különbség a szülők és az utódok petéi között. Ezen kívül a nem kezelt utódok és a szüleik petéi között sokkal nagyobb különbség a kontrollhoz képest, mint a kezelt utódok és szüleik petéi között.



19. ábra: az utódok és a szülők átlagos peteméreteinek különbsége, ahol 0,1: leghígabb koncentráció, 1: szántóföldi koncentráció, 10: legtöményebb koncentráció, N: csak a szülők kezelték, K: szülők és utódok is kezelték, KontrollT: talajon nevelt kontroll, KontrollP: Petri csészében nevelt kontroll

Növekedésvizsgálat

A szülőgenerációban a különböző koncentrációkkal kezelt csoportok növekedési görbéi között nem volt szignifikáns különbség a koncentrációk függvényében, sem az állatok hosszának ($p = 0,748$, standard hiba= 0,0539), sem pedig a szélességének ($p = 0,781$, standard

hiba=0,0143) növekedése esetén. A hosszúság-szélesség arány sem függött a koncentrációtól ($p=0,526$, standard hiba=0,0491).

Az állatok relatív testhossz növekedésére a koncentráció marginálisan szignifikáns ($p=0,053$) hatással van. A koncentráció növekedése enyhén csökkenti az egy napra eső relatív növekedést.

Az utódgeneráció nem kezelt csoportjaiban a testhossznövekedésre vonatkozó növekedési görbék marginálisan szignifikánsan tértek el ($p=0,051$, standard hiba=0,0386) egymástól. A koncentrációnövekedés megnövelte az átlagos napi növekedés értékét. A szélességnövekedés növekedésgörbéi között szignifikáns különbség volt ($p=0,0365$, standard hiba=0,0114). A koncentráció emelkedése növelte az átlagos napi növekményt. A hosszúság-szélesség arány függött a koncentrációtól ($p=0,0417$, standard hiba=0,0769). Az arány csökkent, vagyis az állatok tömörsébbek lettek.

A relatív növekedésre a koncentráció szignifikáns ($p=0,000391$, standard hiba=0,00394) hatással van. A koncentráció növekedése csökkenti az egy napra levetített relatív növekedést.

Az utódgeneráció kezelt csoportjaiban a növekedési görbék között nem volt szignifikáns különbség a koncentrációk függvényében sem a hosszönövekedés ($p=0,358$, standard hiba=0,0368) sem a szélesség ($p=0,112$, standard hiba=0,0107) esetén. A hosszúság-szélesség arány sem függött a koncentrációtól ($p=0,160$, standard hiba=0,0426). A relatív növekedésre a koncentráció nem volt szignifikáns hatással ($p=0,191$, standard hiba=0,00420).

Az általános statisztikai információk a szülőgenerációról a M13-M16. táblázatban, az utódgeneráció csoportjairól a M17-M23. táblázatban olvashatóak a mellékletben.

4. Diskusszió:

Dózishatás kísérlet

A mortalitás nem függött a koncentrációtól, az utódok száma viszont erős koncentrációfüggést mutatott. Ez tipikus eredmény, mivel az élettani jellegek érzékenyebb paraméterek, mint a mortalitás (CROUAU et al. 1999). Más kutatásokban is megjelent már ez az eredmény (SAN MIGUEL et al. 2008). Ezért választottam a további vizsgálatokra a reprodukciós jelleget.

Táplálékválasztási kísérlet

A szülőgenerációban (P) tapasztaltak alapján azt feltételeztem, hogy a kontrollcsoportok azért fogyasztanak több kukorica levelet, mivel a monoton élesztőn tartás után, valamilyen olyan tápanyagot próbálnak nagyobb mennyiségben felvenni, amiben a kukorica levél gazdagabb. Ám az első generációs (F1) kísérletben a kontroll csoportok preferenciája olyan változatosságot mutat, mely alapján ez az elmélet nem állja meg a helyét.

A két generációban látható koncentráció szerinti elrendeződés alapján kapott eredmények azt mutatják, hogy a növényvédő szerrel kezelt állatoknak valószínűleg jobban szüksége van a jobb minőségű táplálékra (ebben az esetben az élesztőre), mint a kontrollcsoportoknak. Nem publikált adataink szerint a *F. candida* számára az élesztő sokkal jobb minőségű táplálékot jelent, mint a kukorica.

A második generációnál arra voltam kíváncsi, hogy vajon ha a szülőket kezelem és az utána következő két generáció nem kap kezelést, az elég idő-e ahhoz, hogy elmúljanak a szer hatásai a vizsgált paraméterekre. Mivel a konfidencia intervallumok beszűkültek és a nulla köré rendeződtek, ezen kívül a statisztikai elemzés is azt hozta ki eredményül, hogy nincs válogatás, ezért a válasz a feltett kérdésre igen, két generáció már elég ahhoz, hogy a Trebon hatása megszűnjön. Egy generáció azonban, nem elég a hatás megszűnéséhez.

Reprodukciós kísérlet

Egyetlen generációban sem sikerült kimutatni, hogy akármelyik vizsgált koncentráció hatással lenne a peteszámra, ám más kutatóknak sikerült kimutatni ilyen jellegű hatásokat (AL-ASSIUTY - KHALIL, 1996; CHOI et al, 2008) . Az eredmény annyiban nem megbízható, hogy a standard hiba figyelembe vételével kiszámolt szükséges mintaszám jóval nagyobb kellett volna legyen. A kérdés megválaszolásához azonban egy sokkal nagyobb vizsgálat szükséges, mely meghaladja egy TDK dolgozat kereteit.

A szülőgenerációban (P) a peteátmérő csökken a koncentráció hatására. Ez egy tipikus reakció, mivel rossz körülmények között a *F. candida* egyedek a túlélésbe fektetnek több energiát és kevesebbet a reprodukcióba, vagyis az utódokba (BUR et al, 2010). Az én vizsgálatomból is az derült ki, hogy a Trebon kezelés nem hatott a mortalitásra. Ezt tekinthetjük a csereviszonyok (trade-off) megnyilvánulásának.

Ha figyelembe vesszük azt a tényt, hogy az első generációban (F1) a Trebon koncentráció növekedésével a TA nőtt, akkor felmerül az a hipotézis, hogy a *F. candida* képes valamilyen

módon az utódoknak információt átadni a környezetről és ehhez igazodik az utódok stratégiája (TULLY- FERRIERE, 2008, HAFER et al, 2011). Ez a stratégia flexibilis, így akár egy egyed is képes lehet két szaporodás között megváltoztatni szaporodási stratégiáját. Erre számos példa van az irodalomban, mind egyes gerincesek (REZNICK-YANG, 1993., BASHEY, 2006, KONTIANINENN et al.,2008), mind egyes gerinctelenek (GLIWICZ-GUISANDE, 1992, FOX et al., 1997, FISCHER et al., 2006, ALLEN et al., 2008) esetében. A fenti hipotézist alátámasztják az utód-szülő peteméret különbségeire kapott eredményeim. A 19. ábrán látható, hogy a nem kezelt utódok és a szüleik között, sokkal nagyobb a különbség a peték átmérőjében a kontrollhoz képest, mint a kezelt utódok és szüleik között. Ez a jelenség magyarázható azzal, hogy a szülők információt adnak át az utódoknak a kedvezőtlen környezetről. Az utódok ennek megfelelően kompenzálnak, így a peteméret közelebb kerül a szülők paramétereikhez. Ha nem következik be kedvezőtlen hatás, akkor a lerakott peték mérete nagyobb lesz a szülők által lerakottakhoz képest. Valószínűleg azért, mert ha már allokálják az energiáikat egy paraméterbe, azt utólag már nem tudják módosítani, vagy csak kis mértékben.

Alternatív hipotézisként felvetődhet, hogy az első generációs (F1) reprodukciós eredmények már a rezisztencia kialakulását mutatják. Mivel talajállatok növényvédő szer rezisztenciájáról nincsen irodalom, ezért a nehézfémekkel szemben kialakult tolerancia lehet a kiindulási alap. LANGDON et al. (2009) egy földigiliszta fajt vizsgált arzénnel szennyezett talajban, illetve STERENBORG-ROELOFS, (2003) az *Orchesella cincta* ugróvillás fajt vizsgálta kadmium szennyezés mellett. Mindkét esetben kialakult tolerancia. Az én kísérletemben az átmérők arányára a szülőgenerációban a Trebon koncentrációnak volt hatása, míg az első generációban nem. Ezek az adatok inkább a rezisztencia hipotézist támasztják alá.

Növekedésvizsgálat

Sem a szülőgenerációban (P), sem a kezelt utódokban (F1K) nem volt kimutatható hatása a Trebonnak az állatok növekedésére. A nem kezelt utódokra (F1N) azonban szignifikáns hatást tapasztaltam. Ez a tény azt látszik bizonyítani, hogy a szülők információt adnak át az utódoknak a környezetről és az utódok ennek megfelelően kompenzálnak, mint a reprodukciós vizsgálat eredményei is mutatják (TULLY- FERRIERE, 2008, HAFER et al, 2011).

Ebben a vizsgálatban is kimutatható volt többgenerációs hatás a reprodukciós és növekedési paramétereken, hasonlóan HAFER et al. (2011) és CAMPICHE et al. (2007) vizsgálataihoz. CAMPICHE et al. (2007) eredményei szerint a Methopren EC_{50} értéke az F_0 generációban 162 mg/kg, az F_1 generációban pedig 191 mg/kg volt. Ezek az eredmények hasonlóak az én vizsgálatom eredményéhez annyiban, hogy az első generációban, már némi rezisztencia kialakulása látható. A táplálékválasztási kísérletem bizonyítani látszik továbbá, hogy az utódok valamilyen módon információt kaphatnak a szülőktől a környezetükről.

További feladatok

Amennyiben az információ átadásának hipotézise igaz, fontos lenne kideríteni, hogy honnan von el az állat forrásokat a kompenzációhoz. Vajon, amennyiben többet fektetnek a peterakásba, akkor kisebbre nőnek? Ha nagyobbra nőnek, akkor kevesebbet fektetnek a peterakásba? Avagy lehetséges, hogy az élettartamuk rövidebbé válik az előbbi paraméterek egyensúlyban tartásához? Esetleg ezek a trade-offok másként változnak meg különböző koncentrációk esetén? Ezeknek a kérdéseknek a megválaszolásához további kísérletek elvégzése szükséges.

5. Összefoglaló:

Az ugróvillások fontos szerepet töltenek be a talajok anyagforgalmában, ezért az inszekticidek rájuk gyakorolt mellékhatásait is meg kell ismerni. Kísérleteimben a Trebon 10 F nevű inszekticid hatásait vizsgáltam a *Folsomia candida* Willem (Collembola) faj mortalitására, reprodukciós képességeire, táplálékválasztására és növekedésére.

A juvenilis produkció esetében szignifikáns dózisfüggő hatást találtam. A mortalitás nem mutatott dózisfüggést a vizsgált koncentráció tartományban.

A Trebon szántóföldön használt koncentrációját, annak tizedét, illetve tízszeresét teszteltem reprodukciós, táplálékválasztási és növekedési vizsgálatokkal. A generációkon átívelő hatásokat kerestem.

A táplálékválasztási kísérletekben élesztőt és kukorica levéldarálékot kínáltam fel az állatoknak. Az élesztő igen jó minőségű táplálék, a kukorica kevésbé. Az élesztőt a legtöményebb koncentrációval kezelt csoportok, és a második generációban a kezelt csoportok preferálták, a nem kezelt csoportok nem válogattak. Néhány kontrollcsoport a kukoricát preferálta. A Trebonnal jobban terhelt állatoknak valószínűleg nagyobb szüksége

van a jobb minőségű táplálékra. A harmadik generációban a csoportok nem válogattak. Ez erősíti a feltételezést, hogy a szer hatásának eltűnéséhez két generáció elég.

A reprodukciós kísérletekben a peteszámra egyik koncentráció sem volt hatással, egyik generációban sem. A peteátmérő azonban a szülőgenerációban csökkent, az utódgenerációban viszont nőtt a koncentráció növekedésével párhuzamosan. Az átmérők arányára (a pete alakjára) a szülőgenerációban volt hatása a Trebonnak, de az utódgenerációban nem.

A növekedésvizsgálat kimutatta, hogy a növekedési görbék között a nem kezelt utódok esetén van különbség. A testhossz esetén marginálisan szignifikánsan nő az átlag emelkedő koncentrációnál, a testszélesség pedig szignifikánsan jobban nő magasabb koncentráció esetén. A napokra levetített relatív növekedés a szülőknél marginálisan szignifikánsan csökken a koncentráció emelkedésére. A nem kezelt utódoknál viszont szignifikánsan csökkent a koncentráció növelésével.

Az eredmények alapján felvetem azokat a hipotéziseket, hogy (1) a szülőgeneráció csökkenti a befektetését az utódokba rossz körülmények között, (2) az *F. candida* képes valamilyen módon információt szolgáltatni az utódoknak a környezetről, így az utódok képesek ahhoz alkalmazkodni. Felvetődik még az a hipotézis is (3), hogy a reprodukciós tesztben az utódgeneráción egy kezdeti rezisztencia jelei mutatkoznak.

Összefoglalva, ez a vizsgálat kimutatta, hogy a Trebon hatással van a *F. candida* reprodukciójára, növekedésére és táplálékválasztására, mely több generáción is átívelő hatás.

6. Summary (The multigeneration effects of Trebon 10 F insecticid on *Folsomia candida* (Collembola))

Springtails have significant role in integrating processes of the soils, consequently studying side-effects of insecticides has a high priority. I was interested in the effects of the insecticid, Trebon 10 F, on the *Folsomia candida*'s Willem (Collembola) mortality, reproduction, food choice and growth.

I found significant dose-dependent effect in juvenil production. Mortality was not dose-dependent.

I used the field concentration, tenth part and tenfold concentration of the Trebon in the reproduction, food choice and growth tests. I searched for multigenerational effects.

In the food choice test I offered baker's yeast and ground leaf of maize. Baker's yeast is a high quality food comparing to maize. Baker's yeast was preferred by groups treated with the most concentrated solution and treated groups from the first generation. Other treated groups

didn't preferred any food. Some controls preferred maize leaf. A possible explanation of this result is that springtails stressed more with Trebon require better quality food. In third generation no food preference was detected. It supports the hypothesis that two generation are enough to disappear the Trebon effects.

In the reproduction test, no effect was detected on the number of eggs in any generation. Diagonal of the eggs decreased in parental generation, but increased in first generation, if the concentration of Trebon increased. Trebon had an effect on the ratio of egg's shape in parental generation, but no effect was found in the first generation

In the growth test the growth curves had differences between the previously non-treated offspring. Increasing concentration had a marginally significant rising effect on body length, and the increasing concentration had a significant rising effect on body width. Increasing concentration marginally significantly decreased relative growth per day. Relative growth of the non-treated offspring significantly decreased.

These results raise the hypothesis (1) that parental generation decrease the investment to offspring in harsh enviroment, and (2) *F. candida* can give information about the enviroment to offspring in some ways. Consequently, offspring can adapt to it. Another hypothesis (3) raises up that in reproduction test offspring show the first symtoms of resistance.

Summed up, this study showed that Trebon has effect on reproduction, growth and food choice of *F. candida*, which can be multigenerational as well.

7. Nyilatkozatok

NYILATKOZAT

a TDK dolgozatról

Alulírott **Szabó Borbála** MSc I. évfolyam, Biológia szakos hallgató **kijelentem, hogy**

A Trebon 10 F növényvédő szer generációkon átívelő hatásai a Folsomia candida

(Collembola) faj esetén című

Tudományos Diákköri dolgozatom saját kutató munkám eredménye. Hozzájárulok, hogy a szerzői jogok tiszteletben tartása mellett a SZIE Állatorvos-tudományi Könyvtárban és az egyetemi adattárban elhelyezett nyomtatott és elektronikus példányokat az érdeklődők felhasználják az alábbi feltételekkel: (Kérjük aláhúzással jelölni)

Nyomtatott másolható: részben / egészben

Elektronikus megjeleníthető: belső hálózaton / szabad hozzáféréssel, interneten

aláírás

Budapest,

TÉMAVEZETŐI NYILATKOZAT

Alulírott Dr. Bakonyi Gábor kijelentem, hogy Szabó Borbála A Trebon 10 F növényvédő szer generációkon átívelő hatásai a Folsomia candida (Collembola) faj esetén című Tudományos Diákköri dolgozatának tartalmát ismerem, azzal egyetértek, Tudományos Diákköri konferencián előadását javaslom.

Budapest,

.....

Aláírás

Dr. Bakonyi Gábor

Témavezető

TÉMAVEZETŐI NYILATKOZAT A TDK ELŐADÁS ENGEDÉLYEZÉSÉRŐL

Alulírott Dr. Bakonyi Gábor kijelentem, hogy Szabó Borbála A Trebon 10 F növényvédő szer generációkon átívelő hatásai a Folsomia candida (Collembola) faj esetén című Tudományos Diákköri dolgozatának tartalmát ismerem, azzal egyetértek. A Tudományos Diákköri konferencián a dolgozatból készült előadás megtartását engedélyezem.

Budapest,

.....

Aláírás

Dr. Bakonyi Gábor

Témavezető

8. Irodalomjegyzék:

- ABRÀMOFF, M. D., HOSPITALS, I., MAGALHÃES, P. J. AND ABRÀMOFF, M. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International*, 2004. 11, 36–42 URL: <http://rsbweb.nih.gov/ij/>
- AL-ASSIUTY, A. I. M. AND KHALIL, M. A. Effects of the herbicide atrazine on *Entomobrya musatica* (Collembola) in field and laboratory experiments. *Applied Soil Ecology* 1996. 4, 139–146
- ALLEN, R. M., BUCKLEY, Y. M., MARSHALL, D. J.: Offspring size plasticity in response to intraspecific competition: An adaptive maternal effect across life-history stages. *American Naturalist*, 2008. 171. 225–237
- BAKONYI G., DOLEZSAI A., MÁTRAI N. AND SZÉKÁCS A.: Effects of Consumption of Bt-maize (MON 810) on the Collembolan *Folsomia candida*, Over multiple Generations: A laboratory study, *Insects* 2011. 2. 243-252
- BASHEY, F.: Cross-generational environmental effects and the evolution of offspring size in the Trinidadian guppy *Poecilia reticulata*, *Evolution*, 2006. 60. 348-361
- BUR, T., PROBST, A., BIANCO, A., GANDOIS, L., CROUAU, Y.: Determining cadmium critical concentrations in natural soils by assessing *Collembola* mortality, reproduction and growth, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2010., 73, 415-422
- CAMPICHE, S., L'AMBERT, G., TARRADELLAS, J., BECKER-VAN SLOOTEN, K.: Multigeneration effects of insect growth regulators on the springtail *Folsomia candida*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2007, 67. 180-189
- CHOI, W. I., NEHER, D. A. AND RYOO, M. I. Life-history trade-offs of *Paronychiurus kimi* (Lee) (Collembola: Onychiuridae) populations exposed to paraquat. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2008. 69, 227–232
- CROUAU, Y., CHENON, P., GISCLARD, C.: The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) for the bioassay of xenobiotic substances and soil pollutants, *Applied Soil Ecology* 1999. 12. 103-111
- CROUAU, Y. AND MOIA, C.: The relative sensitivity of growth and reproduction in the springtail, *Folsomia candida*, exposed to xenobiotics in laboratory: An indicator of soil toxicity, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2006, 64, 115-121
- DÁNYI L. ÉS TRAESER GY. 2007.: Magyarország ugróvillásai. [Springtails of Hungary] – IN FORRÓ, L. (ed.): A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása. [The origin of the fauna of the Carpathian Basin.] Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest, 21-28

- DARVAS B., SZÉKÁCS A: Mezőgazdasági ökotoxikológia. L'Harmattan Budapest 2006. 37-43,75-76, 117-139, 143-266
- FAO specification and evaluations for agricultural pesticides etofenprox: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/Specs/docs/Pdf/new/Etofenprox07.pdf>,
Megtekintés: 2010. 12. 16.
- FISCHER, K., BOT, A.N.M., BRAKEFIELD, P.M, ZWAAN, B.J.: Do mothers producing larger offspring have to sacrifice fecundity?, *Journal of Evolutionary Biology*, 2006. 19. 2. 380-391
- FOLKER-HANSEN, P, KROGH,, P. H AND HOLMSTRUP, M.: Effect of Dimethoate on body growth of representatives of the soil living mesofauna, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1996. 33, 207-216
- FOUNTAIN, M. T. AND HOPKIN, S. P: Continuous monitoring of *Folsomia candida* (Insecta: Collembola) in metal exposure test, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2001. 48, 275-286
- FOUNTAIN, M.T., HOPKIN, S.P.: *Folsomia candida* (Collembola): A “Standard” Soil Arthropod, *Annual review of Entomology* 2005. 50: 201-222
- FOX, C.W., THAKAR, M.S., MOUSSEAU, T.A.: Egg size plasticity in a seed beetle: An adaptive maternal effect. *American Naturalist*, 1997. 149. 149–163
- GLIWICZ, ZM, GUISANDE, C: Family planning in *Daphnia*: resistance to starvation in offspring born to mothers grown at different food levels, *Oecologia*, 1992. 91. 4. 463-464
- GOTO, H. E.: Simple techniques for the rearing of Collembola and a note on the use of a fungistatic substance in the cultures. *Entomologists' Monthly Magazine* 1960. 96. 138-14
- HAFER, N, EBIL, S, ULLER, T, PIKE, N: Transgenerational effects of food availability on age at maturity and reproductive output in an asexual collembolan species. *Biology Letters*, 2011. 7. 5pp. 755-758
- HOPKIN S.P. 1997. *Biology of Springtails (Insecta: Collembola)* Oxford UK, Oxford University Press, 4-5. 142-148
- KONTIAINEN, P, BROMMER, J., E, KARELL, P, PIETIAINEN, H: Heritability, plasticity and canalization of Ural owl egg size in cyclic environment. *Journal of Evolutionary Biology*, 2008. 21. 88-96
- LANGDON, C. J., MORGAN, A. J., M. CHARNOCK, J., SEMPLE, K. T., LOWE, C. N.: As-resistance in laboratory-reared F1, F2 and F3 generation offspring of earthworm *Lumbricus rubellus* inhabiting an As-contaminated mine soil, *Environmental Pollution*, 2009. 157 11p., 3114-3119

- LEMON, J.: Plotrix: a package in the red light district of R. *R-News*, 2006, 6(4): 8-12.
- MAFI, S. A. AND OHBAYASHI, N. Toxicity of insecticides to the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, and its parasitoids, *Chrysocharis pentheus* and *Sympiesis striatipes* (Hymenoptera: Eulophidae). *Applied Entomology and Zoology*, 2006. 41, 33–39
- MITSUI CHEMICALS: <http://www.mitsuichemicals.com/trebon.htm>, Megtekintés: 2011.11.22
- MOUSSEAU, T. A. AND FOX, C. W. 1998 Maternal effects as adaptations., Oxford, UK: Oxford University Press. IN HALFER, N, EBIL, S, ULLER, T, PIKE, N: Transgenerational effects of food availability on age at maturity and reproductive output in an asexual collembolan species. *Biological Letters*, 2011. 7. 5p. 755-758
- NURSITA, A. I., SINGH, B AND. LEES, E: The effects of cadmium, copper, lead and zinc on the growth and reproduction of *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2005., 60, 306-314
- OECD GUIDELINES FOR TESTING CHEMICALS (232) Collembolan Reproduction Test in Soil, 2009.
- PETERSEN, B, ET AL.: Copper accumulation and fitness of *Folsomia candida* Willem in a copper contaminated sandy soil as affected by pH and soil moisture, *Applied Soil Ecology* 1997. 6, 135-146
- PINHEIRO, J., BATES, D., DEBROY, S., SARKAR, D and the R DEVELOPMENT CORE TEAM: nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. *R package*, 2012 version 3.1-105
- REZNICK, D, YANG, A. P.: The influence of fluctuating resources on life history patterns of allocation and plasticity in female guppies, *Ecology* 1993. 74. 2011-2019
- R DEVELOPMENT CORE TEAM: R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing* (2008), Vienna, Austria, ISBN: 3-900051-07-0, URL: <http://www.r-project.org/>
- SCOTT-FORDSMAN, J. J. , KROGH, P. H. AND. HOPKIN, S. P: Toxicity of nickel to a soil-dwelling springtail, *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1999. 43, 57-61
- SAN MIGHUEL, A, RAVETON, M, LEMPÉRIÈRE, G, RAVANEL, P: Phenylpyrazoles impact on *Folsomia candida* (Collembola), *Soil Biology & Biochemistry*, 2008. 40. 2351-2357
- SCHIMMEL, S. C., GARNAS, R. L., JR, J. M. P. AND MOORE, J. C. Acute toxicity, bioconcentration, and persistence of AC 222,705, benthio carb, chlorpyrifos, fenvalerate,

- methyl parathion, and permethrin in the estuarine environment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1983. 31, 104–113
- STAEMPFLI, C., TARRADELLAS, J. AND BECKER-VAN SOOLTEN, K.: Effects of dinoseb of the energy reserves in the soil arthropod *Folsomia candida*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2007. 68, 263-271
- STERENBORG, I, ROELOFS, D: Field-selected cadmium tolerance in the springtail *Orchesella cincta* is correlated with increased metallothionein mRNA expression, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2003. 33. 7. 741-747
- TIMMERMANS, M. J, ROELOFS, T. N. D, MARIËN, J AND VAN STRAALLEN, N. M.: Revealing pancrustacean relationships: Phylogenetic analysis of ribosomal protein genes places Collembola (springtails) in a monophyletic Hexapoda and reinforces the discrepancy between mitochondrial and nuclear DNA markers, *BMC Evolutionary Biology*, 2008. 8. 83. p. 1471-2148
- TULLY, T, FERRIERE, R. :Reproductive flexibility: genetic variation, genetic costs and long-term evolution in a Collembola, *PLoS ONE*, 2008. 3. 9. e3207, 11 oldal, URL: <http://www.plosone.org/article/info:doi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0003207>, Letöltés időpontja: 2011. 02.13.
- WALKER, C. H, HOPKIN, S. P, SIBLY, R. M, PEAKAL, L. D. B.: Principles of Ecotoxicology: Third Edition, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2006., 33-43, 199, 264-265

9. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Hornung Erzsébetnek és Szabó Péternek, amiért átsegítettek a kezdeti nehézségeken, Ványiné Surman Ildikónak, amiért bevezetett a labormunka rejtelmeibe, Lang Zsoltnak, amiért olyan sok tanácsot adott a statisztikai részekhez és végül, de nem utolsó sorban Bakonyi Gábornak, amiért végig segítette a munkámat.

5.Melléklet

Reprodukciós kísérlet:

A szülőgeneráció általános statisztikai adatai:

M1. táblázat: a szülőgenerációra kontrollcsoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,075	0,084	0,079	37
Alsó kvantilis	0,114	0,130	0,124	77
Medián	0,127	0,144	0,134	113
Átlag	0,128	0,144	0,135	115,6
Felső kvantilis	0,143	0,158	0,150	150
Maximum	0,175	0,233	0,201	215

M2. táblázat: a P;0,1 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,058	0,064	0,061	32
Alsó kvantilis	0,106	0,126	0,117	82
Medián	0,122	0,144	0,132	100
Átlag	0,121	0,1417	0,131	111,7
Felső kvantilis	0,135	0,155	0,145	142
Maximum	0,172	0,189	0,177	225

M3. táblázat: a P;1 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,048	0,054	0,051	32
Alsó kvantilis	0,096	0,115	0,104	69
Medián	0,111	0,131	0,120	103,5
Átlag	0,112	0,131	0,121	105,8
Felső kvantilis	0,129	0,146	0,136	141
Maximum	0,177	0,200	0,181	180

M4. táblázat: a P;10 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,051	0,061	0,056	18
Alsó kvantilis	0,092	0,109	0,100	93
Medián	0,105	0,123	0,115	116
Átlag	0,106	0,125	0,115	127,8
Felső kvantilis	0,118	0,141	0,128	177
Maximum	0,162	0,217	0,184	212

Az első generáció általános statisztikai adatai:

M5. táblázat: F1;0P csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,066	0,086	0,075	42
Alsó kvantilis	0,114	0,138	0,125	76,75
Medián	0,128	0,158	0,143	92
Átlag	0,131	0,158	0,144	98,7
Felső kvantilis	0,149	0,178	0,160	127,25
Maximum	0,197	0,264	0,213	161

M6. táblázat: F1;0,1N csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,053	0,071	0,068	19
Alsó kvantilis	0,110	0,135	0,124	49
Medián	0,125	0,152	0,139	148,5
Átlag	0,126	0,153	0,138	131,7
Felső kvantilis	0,144	0,169	0,153	189
Maximum	0,198	0,236	0,216	268

M7. táblázat: F1;1N általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,071	0,084	0,077	11
Alsó kvantilis	0,107	0,130	0,118	54
Medián	0,127	0,149	0,137	119
Átlag	0,126	0,149	0,137	115,1
Felső kvantilis	0,144	0,168	0,154	139
Maximum	0,206	0,246	0,207	276

M8. táblázat: F1;10N általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,065	0,078	0,071	34
Alsó kvantilis	0,119	0,148	0,134	80
Medián	0,135	0,165	0,150	105
Átlag	0,137	0,166	0,150	117,7
Felső kvantilis	0,155	0,183	0,167	144
Maximum	0,211	0,257	0,214	279

M9. táblázat: F1;0T általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,049	0.072	0.060	33
Alsó kvantilis	0,092	0.109	0.102	93,5
Medián	0,106	0.129	0.116	158
Átlag	0,107	0.128	0.117	168,7
Felső kvantilis	0,123	0.142	0.131	243
Maximum	0,179	0.188	0.183	307

M10. táblázat: F1;0,1K csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,050	0,068	0,062	57
Alsó kvantilis	0,088	0,108	0,098	135
Medián	0,102	0,123	0,112	162,5
Átlag	0,103	0,126	0,114	182,7
Felső kvantilis	0,115	0,142	0,127	238
Maximum	0,202	0,210	0,206	320

M11. táblázat: F1;1K általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,060	0,064	0,064	33
Alsó kvantilis	0,096	0,118	0,108	98
Medián	0,110	0,136	0,121	159
Átlag	0,111	0,136	0,123	161,5
Felső kvantilis	0,127	0,152	0,138	211
Maximum	0,178	0,229	0,202	307

M12. táblázat: F1;10K általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Petátmérő1 (mm)	Petátmérő2 (mm)	Transzformált átmérő (TA)	Peteszám (db)
Minimum	0,062	0,087	0,077	16
Alsó kvantilis	0,097	0,119	0,109	101
Medián	0,115	0,142	0,126	176
Átlag	0,117	0,144	0,129	158,3
Felső kvantilis	0,134	0,164	0,145	204
Maximum	0,202	0,277	0,237	314

Növekedés vizsgálat:

A szülőgeneráció általános statisztikai adatai:

M13. táblázat: P;0 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	0,719	0,208	3,188	0,043
Alsó kvantilis	1,252	0,308	3,817	0,049
Medián	1,552	0,371	3,981	0,054
Átlag	1,533	0,386	3,977	0,054
Felső kvantilis	1,914	0,486	4,176	0,057
Maximum	2,220	0,637	4,719	0,067

M14. táblázat: P;0,1 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	0,651	0,183	3,169	0,049
Alsó kvantilis	1,239	0,319	3,681	0,051
Medián	1,584	0,387	3,909	0,054
Átlag	1,523	0,390	3,899	0,056
Felső kvantilis	1,855	0,482	4,141	0,060
Maximum	2,181	0,571	4,673	0,067

M15. táblázat: P;1 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	0,683	0,158	2,961	0,040
Alsó kvantilis	1,195	0,309	3,663	0,051
Medián	1,521	0,371	3,943	0,055
Átlag	1,506	0,384	3,938	0,055
Felső kvantilis	1,877	0,475	4,166	0,061
Maximum	2,177	0,588	5,422	0,066

M16. táblázat: P;10 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	0,658	0,134	3,335	0,041
Alsó kvantilis	1,200	0,296	3,706	0,046
Medián	1,548	0,378	3,930	0,050
Átlag	1,509	0,384	3,971	0,050
Felső kvantilis	1,829	0,479	4,185	0,052
Maximum	2,187	0,551	4,925	0,061

Az első generáció általános statisztikai adatai:

M17. táblázat: F1;0 csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	1,169	0,303	3,096	0,017
Alsó kvantilis	1,583	0,405	3,744	0,026
Medián	1,942	0,498	3,938	0,032
Átlag	1,858	0,473	3,956	0,031
Felső kvantilis	2,098	0,540	4,169	0,037
Maximum	2,339	0,599	4,949	0,050

M18. táblázat: F1;0,1N csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	1,363	0,354	3,332	0,001
Alsó kvantilis	1,857	0,479	3,638	0,009
Medián	1,972	0,531	3,897	0,014
Átlag	1,997	0,518	3,868	0,016
Felső kvantilis	2,140	0,559	4,111	0,025
Maximum	2,479	0,626	4,447	0,039

M19. táblázat: F1;1N csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	1,438	0,308	3,211	-0,005
Alsó kvantilis	1,864	0,485	3,621	0,007
Medián	2,022	0,526	3,852	0,012
Átlag	1,989	0,518	3,882	0,014
Felső kvantilis	2,119	0,572	4,112	0,020
Maximum	2,418	0,654	5,008	0,039

M20. táblázat: F1;10N csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	1,300	0,307	3,309	-0,014
Alsó kvantilis	1,860	0,481	3,659	0,005
Medián	1,991	0,528	3,799	0,011
Átlag	1,999	0,524	3,834	0,009
Felső kvantilis	2,114	0,569	3,955	0,016
Maximum	2,644	0,670	4,815	0,024

M21. táblázat: F1;0,1K csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	1,777	0,408	3,338	-0,009
Alsó kvantilis	1,978	0,496	3,692	0,006
Medián	2,079	0,554	3,887	0,010
Átlag	2,106	0,543	3,899	0,009
Felső kvantilis	2,249	0,598	4,062	0,013
Maximum	2,518	0,668	5,099	0,020

M22. táblázat: F1;1K csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	1,437	0,344	3,349	-0,008
Alsó kvantilis	1,799	0,453	3,748	0,011
Medián	1,919	0,509	3,884	0,017
Átlag	1,932	0,496	3,911	0,018
Felső kvantilis	2,098	0,542	4,122	0,028
Maximum	2,429	0,640	4,517	0,036

M23. táblázat: F1;10K csoport általános statisztikai adatai, ahol a minimum az adott paraméter legkisebb értéke, a maximum a legnagyobb érték, az alsó kvantilis az adatok 25%-nak határértéke, a felső kvantilis az adatok 75%-nak határértéke, az átlag az adatok átlaga, a medián a sorba rendezett adatok középső értéke

	Hosszúság (mm)	Szélesség (mm)	Hossz-szélesség arány	Relatív növekedés (mm/nap)
Minimum	1,495	0,331	2,974	-0,002
Alsó kvantilis	1,865	0,485	3,679	0,010
Medián	2,015	0,530	3,856	0,013
Átlag	2,021	0,526	3,864	0,015
Felső kvantilis	2,110	0,568	4,062	0,017
Maximum	2,566	0,652	5,098	0,045