

Szelén fitoextrakciója és mikrobacsoportok előfordulása szennyezett talajokban

^{1a} SIMON LÁSZLÓ, ²BIRÓ BORBÁLA, ³SZÉLES ÉVA és
^{1b} BALÁZSY SÁNDOR

¹Nyíregyházi Főiskola, ^aTáj- és Környezetgazdálkodási Tanszék, ^bBiológia Intézet, Nyíregyháza; ²MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet, Budapest és ³Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Élelmiszerelméleti és Minőségbiztosítási Tanszék, Debrecen

Bevezetés

A felszíni talajok szeléntartalmának világátlaga $0,33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. A talajokban a szelénvegyületek oldhatósága, mobilitása általában kicsi, ezért a legtöbb országban (így Magyarországon is) a termények és takarmányok szeléntartalma a kívánatosnál kisebb. A szemiarid, illetve arid övezetekben azonban erősen meszes vagy rossz vízgazdálkodású, ún. szelenifer talajok a találhatók (pl. az Egyesült Államokban, Kaliforniában), amelyek feltalajának természetes eredetű szeléntartalma veszélyesen nagy, és jóval meghaladja a már kritikusnak tartott $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ értéket. Szelén kerülhet a talajokba, felszíni vizekbe antropogén hatásra is, pl. szennyvíziszap-kijuttatással, műtrágyákkal, szerves trágyákkal, mesterséges szelenkjuttatással, ércfeldolgozással, az olajfinomítás melléktermékeivel és a szálló pernyékkal. A szelén az állati (és emberi) szervezet számára esszenciális mikroelem, legtöbbször a hiánya okoz gondot. Az elettani minimumszükséglet és a már toxikus koncentráció közötti intervallum azonban nagyon szűk, így a talajokban található szeléntartalom a toxikusság, illetve a környezetszennyezés miatt is nagyon fontos (ADRIANO, 2001; BARCELEOUX, 1999; KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 2001; KÁDÁR, 1999; SZABÓ et al., 1993; TERRY et al., 2000).

A talajban a szelén különféle vegyértékű formákban fordul elő, melyek aránya és koncentrációja elsősorban a pH-tól és a redoxviszonyuktól függ. A növények számára jól felvehető, mobilis szelenátok (Se^{6+}) csak jól szellőzött, lúgos talajokban fordulnak elő. A szelenitek (Se^{4+}) mérsékeltet mobilisak és a jó vízgazdálkodású semleges vagy savanyú kémhatású talajokban találhatóak meg. Mivel a talajban a szelenitek könnyen adszorbeálódnak az Al- és Fe-oxidokon és a szerves anyagon, a növények számára általában kevésbé felvehetők (ADRIANO, 2001; KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 2001; KÁDÁR, 1999; TERRY et al., 2000). A szelenátokat aktív módon, kénanyagcseréjük során veszik fel a növények, míg a szeleniteket

Postai cím: SIMON LÁSZLÓ, Nyíregyházi Főiskola, Műszaki és Mezőgazdasági Főiskolai Kar Táj- és Környezetgazdálkodási Tanszék, 4401 Nyíregyháza, Pf. 166. *E-mail:* simonl@nyf.hu

passzív módon akkumulálják (TERRY et al., 2000). A legtöbb mezőgazdasági növény szeléntartalma kisebb, mint $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (szárazanyagra számítva), élelmiszerünké alig haladja meg a $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ -ot (ADRIANO, 2001; BARCELEOUX, 1999; KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 2001; TERRY et al., 2000). A káposztafélék (*Brassicaceae*) azonban – köztük a szareptai mustár (*Brassica juncea* L.) – néhány száz milligramm szelén akkumulációjára is képesek egy gramm szárazanyagra számítva, ha szelénnel mérsékelt szennyezett talajokon termesztyük őket (BAÑUELOS & MEEK, 1990; BAÑUELOS et al., 1990; ZAYED et al., 1998).

A növényeknek tehát kulcsszerepük van a táplálékláncba kerülő szelén közvetítésében. Szeléniányos területeken, szelénpótlás esetén az elemet jól akkumuláló fajokkal szelént juttathatunk az állati és emberi szervezetbe (BARCELEOUX, 1999; HEGEDÜS et al., 2005; TERRY et al., 2000). Másrészt a talajok szelénszennyeződését növényekkel is csökkenthetjük az ún. fitoremediáció során, amikor növényekkel, illetve a velük társult mikroorganizmusok segítségével tisztítjuk meg a környezeti elemeket a szervetlen vagy szerves szennyezőanyagoktól (SIMON, 2004). Fitoextrakcióról akkor beszélünk, ha a talajból a nehézfém-szennyeződések a növények könnyen betakarítható szerveibe kerülnek át. Fitovolatizációnak nevezzük azt a folyamatot, amikor a növények, illetve a rizoszférájukban található mikroorganizmusok a szervetlen szelént illékony szelénvegyületekké, elsősorban dimetilszeleniddé alakítják át, és így csökkentik a talajban lévő szeléntartalmat, illetve a szelén fitotoxikus tüneteit (DE SOUZA et al., 1999; TERRY & BAÑUELOS, 2000; TERRY et al., 2000). A rizoszférában található mikroorganizmusok közül ilyen tevékenység kifejtésére elsősorban az adott szennyezővel szemben toleráns, vagy egyéb hasznos tevékenységre (pl. növényi hormontermelésre) is képes mikrobák használhatók (ZHANG & CHASTEEEN, 1994; XIE et al., 1996; VIVAS et al., 2003).

Megvizsgáltuk, hogy szelenátokkal vagy szelenitekkel mesterségesen szennyezett talajokból a szareptai mustár, takarmányretek és a lucerna mennyi szelén fitoextrakciójára képes. Tanulmányoztuk továbbá, hogy ezekben a szelénnel szennyezett talajokban milyen mikrobacsoportok vannak jelen, és azok között vannak-e olyan fajok, melyekről feltételezhető, hogy a rizoszférában serkentik a szelén fitoextrakcióját, illetve fitovolatizációját.

Anyag és módszer

Tenyészedény-kísérlet. – A szennyezetlen Ramann-féle rozsdabarna erdőtalaj (vályogos homok, leiszapolható rész 15,8%; pH_{KCl} 6,6; humusztartalom 1,3%; T-érték 18,1 cmol_c·kg⁻¹) a Nyíregyházi Főiskola Rákóczi úti bemutatókertjének legfelől, 0–20 cm-es rétegeből származott. A 2 mm-es szitán átbocsátott, megfelelően homogenizált, légszáraz talajmintákat $2,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ szelénnel szennyeztük oly módon, hogy a vékonyan szétterített talajra nátrium-szelenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Fluka, Németország) vagy nátrium-szelenát (Na_2SeO_4 , Fluka, Németország) oldatokat permeteztünk, majd a talajt alaposan összekevertük. A kontrolltalaj nem részesült ilyen kezelésben. Fényszobás, tenyészedény-kísérletet állítottunk be 4 ismétléssel

szareptai mustárral (*Brassica juncea* L. Czern., cv. Negro Caballo) és takarmányretekkel (*Raphanus sativus* L. convar. *oleiformis* Pers., cv. Leveles olajretek). Az 1–1 kg kontroll- vagy szelénsókkal kezelt talajt tartalmazó tenyészedényekben 2–5 növényt nevélünk. A kísérlet időtartama alatt a megvilágítást (naponta 5000 lux 10 órán keresztül) fénycsövekkel szabályoztuk, a hőmérséklet nappal 24–26 °C, éjszaka 17–18 °C, a relatív páratartalom 40–50% volt. A növényeket hetente 3 alkalommal desztillált vízzel öntöttük, a szántóföldi vízkapacitás eléréséig (tömegállandóságig). A kísérlet időtartama alatt 2 alkalommal juttattunk a talajba 40 mg·kg⁻¹ nitrogént NH₄NO₃ oldat formájában. A kísérletet 6 hét eltelt után bontottuk. A tenyészedények talajának 4 ismétlésssel történt megmintázása után a növények gyökerét és hajtását csavízzel, majd háromszor váltott desztillált vízzel gondosan megmostuk, megsárítottuk (40 °C, 12 óra) és megdaráltuk (<1 mm). A növény- és talajminták feltáraása (cc. HNO₃ + cc. H₂O₂) után elemösszetételüket ICP-OES (Optima 3300 DV, Perkin-Elmer, USA) vagy ICP-MS (X7 series, Thermo Elemental, UK) technikával határoztuk meg 4 ismétlésssel a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumában (KOVÁCS et al., 2000).

A koncentrációjának a növényi szervekben és a talajban mért szeléntartalmakat elosztva számoltuk ki. A transzport indexeket a hajtásban és a teljes növényben mért szelénmennyiségek hányadosának százszoros értékeként számítottuk ki (SIMON et al., 2003).

A kísérlet befejezésekor a növények gyökerére tapadt talaj (rizoszféra talaj) mikrobaközösségeit is megvizsgáltuk oly módon, hogy a légszáraz talajból (4 ismétlésből) 1–1 g-os átlagmintákat képeztünk. 1 g légszáraz talajt 100 cm³ steril 0,85%-os NaCl oldatban 20 percig rázattunk. Hígítási sor után az oldatokból 50 µl-t Nutrient és King B táplemezekre szélesztettünk, melyet 48 óráig 26 °C-on inkubáltunk. A kitenyészett mikroorganizmusokat nemzettség szintig biokémiai módszerekkel (Gram-festés, oxidáz-kataláz reakciók, savképzés stb.), a fajokat API®-tesztekkel azonosítottuk, és meghatároztuk százalékos előfordulási arányukat (VINCZE et al., 1994).

Szabadföldi kísérlet. – A 13 különféle nehézfém-szennyezést tanulmányozó nagyhörcsöki szabadföldi kispárcellás tartamkísérletben 1991-ben a mészlepedékes csernozjom talajt (vályog, pH_{KCl} 7,1–7,4; leiszapolható rész 75–85%; humusz 3–3,5%; CaCO₃ ekvivalens 3–5%; T-érték 30 cmol_c·kg⁻¹) 0, 30, 90, 270 és 810 kg·ha⁻¹ szelénadagokkal szennyezték nátrium-szelenit (Na₂SeO₃) formájában (KÁDÁR, 1999; NÉMETH & KÁDÁR, 2005). 2005-ben a kontroll- és szelénnel kezelt parcellák második éve lucernát (*Medicago sativa* L., cv. Anna) termeszttettek. 2005 őszén a kísérleti parcellák átlós bejárásával 10–10 helyről történt mintavétellel 2 átlagmintát vettünk a lucernahajtásokból, illetve 20–20 0–20 cm-es mélységből történt leszúrásból 2 átlagmintát képeztünk a talajmintákból. A minták előkészítése és elemanalízise a fent leírt módon történt. A növényminták elemanalízisét az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézetben végezték ICP-OES technikával.

A mikrobiológiai vizsgálatokat a 270 és 810 kg·ha⁻¹ szelénkezelést kapott parcellák talajából végeztük. A különféle mikrobacsoportok (heterotrófok, mikroszkopikus gombák, sugárgombák, valamint a spóraképzők) kitenyészhető sejtszámát (abundanciáját) szelektív táplemezek segítségével a megfelelő talajhígításokból

határoztuk meg (ANGERER et al., 1998). A heterotrófokat és a spóráképzőket Nutrient-táplemezeken (utóbbiakat 10 perces 80 °C-os vízfürdős kezelés után), a sugárgombákat Ashby-lemezeken, a mikroszkopikus gombákat pedig Martinagaron határoztuk meg (SZEGI, 1976). A szelén-toleráns mikrobák részarányát szelektív, 0; 0,3; 1,1; 3,4 és 10 mM Na-szelenitet tartalmazó táptalajokon ellenőriztük. A mikrobacoportotktól függő 1 napos vagy 1 hetes inkubáció után a kifejlődött telepeket megszámoltuk, majd a kapott sejtszámokat 1 g száraz talajra vonatkoztattuk. A domináns mikrobafajok azonosítása a tenyészedény-kísérletben leírt módon történt.

Statisztikai analízis. – A kísérleti adatok feldolgozása és rendszerezése Microsoft Excel programmal történt. A mérési adatok statisztikai elemzését egyváltozós varianciaanalízissel, Tukey-féle b-teszttel végeztük, SPSS programot alkalmazva. Az adatok statisztikai analízise után a mikrobaszámok log-transzformált értékeit közöljük.

Eredmények és értékelésük

A tenyészedényes fényszobás kísérletben a Na-szelenittel ($2,5 \text{ mg Se}\cdot\text{kg}^{-1}$) szennyezett barna erdőtalajból a szareptai mustár hajtása $21,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, a takarmányretek pedig $34,9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ szelént akkumulált. Na-szelenát ($2,5 \text{ mg Se}\cdot\text{kg}^{-1}$) kijuttatás esetén ezek az értékek jelentősen megemelkedtek és a szareptai mustár, illetve a takarmányretek hajtásában elértek az 585, ill. $684 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ -öt (1. táblázat). Igazolódott tehát, hogy a növények a talajban lévő szelenátokból – aktív transzporttal – jóval több szelént szállítanak át a föld feletti szerveikbe, mint passzív akkumulációval a

1. táblázat

Szareptai mustár és takarmányretek szelénakkumulációja és szárazanyag-hozama (tenyészedény-kísérlet, Nyíregyháza, 2006)

(1) Kezelések	(2) Szareptai mustár		(5) Takarmányretek	
	(3) Gyökér	(4) Hajtás	(3) Gyökér	(4) Hajtás
<i>A. Szelénakkumuláció ($\mu\text{g Se}\cdot\text{g}^{-1}$ szárazanyag)</i>				
a) Kontroll	0,46 ^a	0,33 ^a	0,19 ^a	0,94 ^a
b) $2,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Na-szelenit	34,0 ^a	21,1 ^a	51,3 ^a	34,9 ^a
c) $2,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Na-szelenát	694 ^b	585 ^b	683 ^b	684 ^b
<i>B. Szárazanyag ($\text{g}\cdot\text{növény}^{-1}$)</i>				
a) Kontroll	0,07 ^a	0,89 ^a	0,02 ^a	0,30 ^a
b) $2,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Na-szelenit	0,06 ^a	0,72 ^{ab}	0,02 ^a	0,40 ^b
c) $2,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Na-szelenát	0,01 ^b	0,16 ^b	0,01 ^b	0,14 ^c

Megjegyzés: Varianciaanalízis. Tukey-féle b-teszt (n=4). Az azonos betűindexet kapott oszlopok értékei szignifikánsan nem különböznek egymástól ($P < 0,05$)

szelenitekből. Szintén igazoltuk, hogy a szareptai mustár már mérsékelt talajszenyezés esetén is jelentős mennyiségű szelént halmoz fel hajtásában (BAÑUELOS & MEEK, 1990; BAÑUELOS et al., 1990; ZAYED et al., 1998). Ez a megfigyelés az ugyancsak a káposztafélék közé tartozó (korábban mások által ilyen szempontból nem vizsgált) takarmányretek esetén is igaznak bizonyult. A transzport indexek alapján megállapítottuk, hogy a szareptai mustár szelenit-kijuttatás esetén a felvett szelén 38%-át, szelenátkezelés esetén pedig 49%-át szállítja át a hajtásába, mely a fitoextrakció során könnyen betakarítható. Takarmányretek esetén ezek az értékek nagyon hasonlóak; 40, illetve 48%-osak voltak.

A kísérlet befejezésekor a szareptai mustár talajában ICP-MS technikával a következő átlagos „összes” (cc. HNO_3 + cc. H_2O_2 -oldható) szeléntartalmakat mértük: $9,7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (kontroll); $713 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Na-szelenit kezelés) és $532 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Na-szelenát kezelés). Takarmányretek kultúra esetén ezek az értékek <1 , 710 és $508 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ voltak a kontroll-, Na-szelenit- és Na-szelenát kezelésekben. Az adatok szintén alátámasztják, hogy a talaj szelenátkezelése esetén több szelént vesznek fel a növények, mint szelenit-kijuttatáskor.

Az 1. táblázat a szareptai mustár és takarmányretek kultúrák szárazanyag-hozamát is szemlélteti. Az adatok és a statisztikai elemzés alapján nyilvánvaló, hogy a szelenátkezelés jóval nagyobb mértékben csökkentette minden két növényfaj szárazanyag-felhalmozását, mint a szelenit-kijuttatás. A szelenát-kezelt talajban nevelt szareptai mustár és takarmányretek gyökerében ez a csökkenés 85, illetve 53%-os, a hajtásokban 76, illetve 53%-os volt a kontrollhoz viszonyítva. Mindez egyértelműen a szelenátokból történő nagyobb szelénfelvétellel (1. táblázat) hozható kapcsolatba.

A rizoszférából vett, szelénnel szennyezett talajmintákban elsősorban *Bacillus*, *Corynebacterium* és *Pseudomonas* fajokat találtunk, melyek közül a *Corynebacterium* volt domináns (2. táblázat). A növények rizoszférájában talált mikrobacsoportokon belül a növénynövekedést serkentő („plant-growth promoting rhizobacteria – PGPR”) *Pseudomonas* és *Bacillus* fajokról feltételezhetjük, hogy a talajba kijuttatva a növények rizoszférájában serkentik a növények Se-fitoextrakcióját, illetve fitovolatizációját (DE SOUZA et al., 1999; ZHANG & CHASTEEN, 1994).

Annak ellenére, hogy a nagyhörcsöki nehézfém-szennyezést tanulmányozó *sabadjöldi tartamkísérletben* az 1991-ben kijuttatott Na-szelenit jelentős része időközben a mélyebb rétegekbe mosódott le (KÁDÁR, 1999; KÁDÁR & NÉMETH, 2003a,b; NÉMETH & KÁDÁR, 2005; SIMON et al., 2006), 2005-ben a kezelt parcellákról betakarított lucerna hajtásában KÁDÁR (2006) $85,3\text{--}727 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ szelént mért (3. táblázat). A jelentős szelénfelvételre magyarázatul szolgálhat, hogy időközben a szelenit nagy része a talajban a növények számára könnyebben felvehető szelenáttá alakult át (KÁDÁR, 1999; SZÉLES et al., 2006). A kísérleti parcellákon második éve termesztettek lucernát, mely mélyen gyökerezik, és feltételezhetően a mélyebb rétegekben is megtalálható szelénből (SIMON et al., 2006) is szállított fel szelént a hajtásába. A talaj legfelső 0–20 cm-es rétegében a lemosódás ellenére is jelentős mennyiségű szelén maradt még, mely a kijuttatott Se-dózistól függően 2,3–8,0

2. táblázat

Mikroorganizmusok száralékos megoszlása a szareptai mustár és takarmányretek szelénnel kezelt talajában (tenyészedény-kísérlet, Nyíregyháza, 2006)

(1) Összmikroba-szám és mikrobacsoport	(2) Szareptai mustár			(4) Takarmányretek		
	(3) Kontroll	2,5 mg·kg ⁻¹		(3) Kontroll	2,5 mg·kg ⁻¹	
		Na ₂ SeO ₃	Na ₂ SeO ₄		Na ₂ SeO ₃	Na ₂ SeO ₄
a) Összmikroba-szám (CFU x 10 ⁶ /g talaj)	23,3	126,3	106	96	78,6	198,4
Bacillus sp. (%)	22,3	–	4,9	7,7	9,5	18,4
Corynebacterium sp. (%)	77,7	53,6	94,8	92,0	86,5	80,5
Enterobacter sp. (%)	–	12,2	–	–	–	–
Enterobacter/Pseudomonas sp. (%)	–	–	–	–	3,6	–
Pseudomonas sp. (%)	–	23,8	–	–	–	–
Staphylococcus sp. (%)	–	–	–	–	–	1,1
b) Fonalas gomba (%)	–	–	0,3	0,3	0,4	–

3. táblázat

Szeléntartalom a feltalajban (0–20 cm) (mg·kg⁻¹) és a lucerna szénájában (μg·g⁻¹)

15 évvel a Se talajba juttatása után

(Szabadföldi kisparcellás tartamkísérlet, Nagyhörcsök, 2005)

(1) Minta	(2) Se-terhelés 1991 tavaszán, kg·ha ⁻¹				
	0	30	90	270	810
a) Talaj (0–20 cm)	0,41 ^a	2,3 ^a	4,6 ^b	8,4 ^c	8,0 ^c
b) Lucernaszéna	0,6 ^a	85,3 ^{ab}	298 ^b	616 ^c	727 ^c

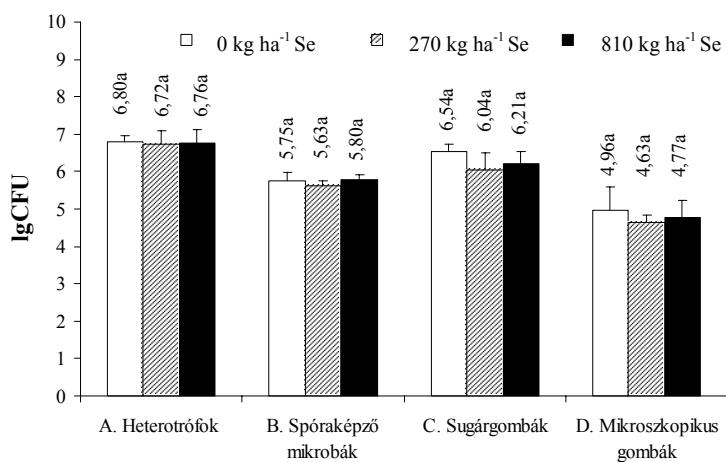
Megjegyzés: Varianciaanalízis. Tukey-féle b-teszt (n=2). Az azonos betűindexet kapott sorok értékei szignifikánsan nem különböznek egymástól (P < 0,05).

mg·kg⁻¹ között változott. A koncentrációhányadosok értéke a kontrollkultúrákban mindenkor 1,5-szeres; 30, 90, 270 és 810 mg·kg⁻¹ Se-kijuttatás esetén 38-szoros, 65-szörös, 74-szoros és 91-szoros volt, vagyis lineárisan emelkedett. Minél több szelén volt tehát a feltalajban, annál több szelén került be a lucerna hajtásába. Mindez igazolja DUCKART és munkatársai (1992) azon megfigyeléseit, hogy a lucerna is a szelént jól akkumuláló növényfajok közé tartozik.

A kijuttatás utáni első négy évben a szelén erős fitotoxikus hatást gyakorolt a kísérleti parcellákon termesztett növényfajokra, majd 10 év elteltével (valószínűleg a szelén mélyebb rétegekbe történt kimosódásával összefüggésben) ez a terméscsökkenő hatás mérséklődött (KÁDÁR, 1999, 2006).

A szelén kimosódásával, illetve a talajban maradt szelénhez történt adaptációval magyarázható az is, hogy a kitenyészhető mikrobaszámokban (heterotrófok, spóra-

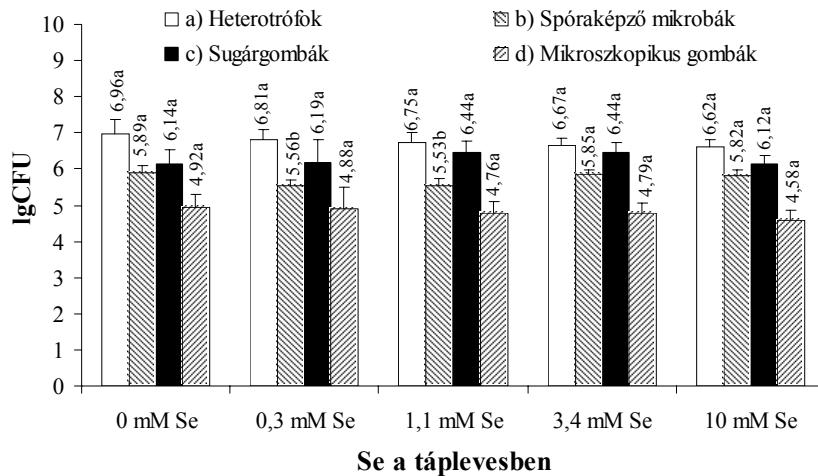
képző mikrobák, sugárgombák és mikroszkopikus gombák) a kontroll- és a szelénkezelt talajok között nem találtunk szignifikáns eltérést (1. ábra). A talajban lévő szelénmennyiséget tehát tolerálták a mikrobák. Különbséget csak a mikrobacsoportok átlagos számában találtunk, amely általában egy-egy nagyságrenddel különbözött. Az átlagos sejtszámok (CFU) sorrendben a következőképpen alakultak: heterotróf összcsírászám 6,76; sugárgombák 6,26; spórások 5,73; mikroszkopikus gombák 4,78. A szelénnel szennyezett talajmintákból elsősorban *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium* és *Bacillus* fajokat tudtunk izolálni.



1. ábra

Néhány kitenyészhető mikroorganizmus-csoporthoz átlagos sejtszámának (Colony Forming Units, CFU) logaritmusértékei 1 gramm száraz talajra vonatkoztatva a nagyhörcsöki kontroll- és szelénnel kezelt talajokban (0–20 cm). Megjegyzés: Varianciaanalízis. Tukey-féle b-teszt ($n=6$). Az azonos betűindexet kapott oszlopok értékei szignifikánsan nem különböznek egymástól ($P < 0,05$)

A 2. ábra a táplevesbe *in vitro* kijuttatott Na-szelenit hatását mutatja be a mikrobacsoportok szaporodására. A növekvő szeléndózisokkal a mikroszkopikus gombák és a heterotrófok száma csökkent ugyan, de ez nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak. Mivel a spóraképző mikrobák száma a 0,3 és 1,1 mM szeléndózis hatására szignifikánsan lecsökkent a kontrollhoz viszonyítva, feltételezhető, hogy a négy megvizsgált mikrobacsoporthoz közül a spóraképzők a legérzékenyebbek a szelénfeleslegre.



2. ábra

Szelén (Na-szelenit) hatása néhány mikrobacsoport szaporodására Nutrient táplevesben 14 órás rázatásos fermentáció után (*in vitro* kísérlet, Budapest, 2005). Megjegyzés: Varianciaanalízis. Tukey-féle b-teszt (n=6). Az eltérő betűindexet kapott oszlopok értékei szignifikánsan különböznek egymástól ($P<0,05$)

Összefoglalás

Tenyészedényes kísérletben tanulmányoztuk, hogy a Ramann-féle rozsdabarna erdőtalajba kijuttatott nátrium-szelenitból ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Se), illetve nátrium-szelenátból ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Se) mennyi szelént akkumulál hajtásában a szareptai mustár és a takarmányretek. Megállapítottuk, hogy szelenit-kijuttatás esetén a hajtásba egy nagyságrenddel kevesebb szelén kerül be, mint a talaj szelenátkezelése esetén. Utóbbit esetben a szareptai mustár hajtásában 585, a takarmányretekében $684 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ szelént mértünk. Mindez a hajtások szárazanyag-hozamának 53–85%-os visszaesést eredményezte. A transzport indexek kiszámításával megállapítottuk, hogy a növények által felvett szelén 40–50%-a szállítódott át a fitoextrakció során könnyen betakarítható hajtásba. A rizoszférából vett talajmintákban a domináns faj a *Corynebacterium* volt. A rizoszférában szintén jelen lévő *Bacillus* és *Pseudomonas* fajokról feltételezhetjük azonban – melyek a növénynövekedést serkentő ún. PGPR baktériumok közé tartoznak –, hogy a talajba mesterségesen kijuttatva stimulálják a növények szelénfelvételét (fitoextrakcióját), illetve fitovolatizációját.

A nagyhörcsöki mikroelem-terheléses szabadföldi tartamkísérletben a mészlepedékes cserszermű talajba 1991-ben $30\text{--}810 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ nátrium-szelenitet juttattak ki. A kijuttatott szelén nagy része időközben a mélyebb rétegekbe mosódott le, és szelenáttá oxidálódott. Annak ellenére azonban, hogy a szelenitkezelt parcellák 0–20 cm-es rétegében mindenkor $2,3\text{--}8,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ volt az „összes” (cc. HNO_3 +cc. H_2O_2 -oldható) szeléntartalom, a lucerna hajtásában 2005 őszén $85,3\text{--}727 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ szelént

mértünk. A koncentrációhányadosok kiszámolásával megállapítottuk, hogy a talaj szeléntartalmának növekedésével lineárisan nőtt a lucerna hajtásába került szelén-mennyiség. A feltajóból kitenyészhető mikrobák (heterotrófok, spóráképzők, sugárgombák és mikroszkopikus gombák) átlagos sejtszáma még a legnagyobb (270 vagy $810 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) szelénkezelésben részesült parcellák talajában sem csökkent szignifikáns mértékben. Ezekben a talajmintákban *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium* és *Bacillus* fajokat azonosítottuk.

Kulcsszavak: szelén, szennyezett talaj, fitoextrakció, mikrobacsoportok

A fenti munkát az OTKA T43479 és T46610 kutatási programok, az első szerző tevékenységét az OM Széchényi István ösztöndíja támogatta.

Irodalom

- ADRIANO, D. C., 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. 2nd ed. Springer-Verlag. New York.
- ANGERER, I. et al., 1998. Indicator microbes of chlorsulfuron addition detected by a simplified soil dilution method. Agrokémia és Talajtan. **47**. 297–305.
- BAÑUELOS, G. S. & MEEK, D. W., 1990. Accumulation of selenium in plants grown on selenium-treated soil. J. Environ. Qual. **19**. 772–777.
- BAÑUELOS, G. S., MEEK, D. W. & HOFFMAN, G. J., 1990. The influence of selenium, salinity, and boron on selenium uptake of wild mustard. Plant Soil. **127**. 201–206.
- BARCELEOUX, D. G., 1999. Selenium. J. Toxicol. – Clin. Toxic. **37**. 145–172.
- DE SOUZA, M.P. et al., 1999. Rhizosphere bacteria enhance selenium accumulation and volatilization by Indian mustard. Plant Physiol. **119**. 565–573.
- DUCKART, E. C., WALDRON, L. J. & DONNER, H. E., 1992. Selenium uptake and volatilization from plants growing in soil. Soil Sci. **53**. 94–99.
- HEGEDŰS, O. et al., 2005. Szeléntartalom növelése a borsó (*Pisum sativum* L.) magjának protein frakciójában a talajba kijuttatott szelénsókkal. Bull. Food Res. **44**. 249–259. (Szlovák nyelven)
- KABATA-PENDIAS, A. & PENDIAS, H., 2001. Trace Elements in Soils and Plants. 3rd ed. CRC Press LLC, Boca Raton–London–New York–Washington, D. C.
- KÁDÁR I., 1999. Szelénforgalom a talaj–növény rendszerben. Agrokémia és Talajtan. **48**. 233–242.
- KÁDÁR I., 2006. Mikroelem-terhelés hatása a lucernára karbonátos csernozjom talajon. Kézirat. MTA TAKI. 1–18.
- KÁDÁR I. & NÉMETH T., 2003a. Mikroelem-szennyezők kimosódásának vizsgálata szabadföldi terheléses tartamkísérletben. Agrokémia és Talajtan. **52**. 315–330.
- KÁDÁR I. & NÉMETH T., 2003b. Mikroelemek kilúgzása meszes csernozjom talajon. In: Mikroelemek a táplálékláncban (szerk.: SIMON L. & SZILÁGYI M.). 134–149. Beszenyi György Könyvkiadó. Nyíregyháza.

- KOVÁCS, B. et al., 2000. Studies on soil sample preparation for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry analysis. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* **31**. 1949–1963.
- NÉMETH, T. & KÁDÁR, I., 2005. Leaching of microelement contaminants: a long-term field study. *Z. Naturforsch.* **60c**. 260–264.
- SIMON L., 2004. Fitoremediáció. Környezetvédelmi Füzetek. BMKE OMIKK. Budapest.
- SIMON, L. et al., 2006. Phytoextraction of selenium from contaminated soils with Indian mustard, fodder radish and alfalfa. In: Proc. Internat. Symp. on Trace Elements in the Food Chain. (Eds.: SZILÁGYI, M. & SZENTMIHÁLYI, K.). 40–44. Working Committee on Trace Elements of the Complex Committee Hungarian Academy of Sciences and Institute of Material and Environmental Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences. Budapest, Hungary.
- SIMON, L., SZEGVÁRI, I. & CSILLAG, J., 2003. Impact of picolinic acid on the chromium accumulation in fodder radish and komatsuna. *Plant Soil.* **254**. 337–348.
- SZABÓ S.A., GYÖRI D. & REGIUSNÉ M. Á., 1993. Mikroelemek a mezőgazdaságban II. (Stimulatív hatású mikroelemek). Akadémiai Kiadó és Nyomda. Budapest.
- SZEGI J. 1976. Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.
- SZÉLES É. et al., 2006. Szelén-speciációs vizsgálatok talajmintákból ionkromatográffal összekapcsolt induktív csatolású plazma-tömegspektrométer (IC-ICP-MS) alkalmazásával. Debreceni Egyetem Agrártudományi Közlemények. Acta Agraria Debreciensis. Különszám. **23**. 106–111.
- TERRY, N. et al., 2000. Selenium in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **51**. 401–432.
- TERRY, N. & BAÑUELOS, G. (Eds.), 2000. Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. Lewis Publishers. Boca Raton–London–New York–Washington, D. C.
- VINCZE, G. et al., 1994. Investigation of chromium(VI) tolerant bacteria. *Acta Biol. Hung.* **45**. 17–25.
- VIVAS, A et al., 2003. Beneficial effects of indigenous Cd-tolerant and Cd-sensitive *Glomus mossae* associated with a Cd-adapted strain of *Brevibacillus* sp. in improving plant tolerance to Cd contamination. *Appl. Soil Ecol.* **24**. 177–186.
- XIE, H., PATERNAK, J. J. & GLICK, B. R., 1996. Isolation and characterisation of mutants of the plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas putida* Gr-12-2 that overproduce indole acetic acid. *Curr. Microbiol.* **32**. 67–11.
- ZAYED, A., LYTTLE, C. M. & TERRY, N., 1998. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta.* **206**. 284–292.
- ZHANG, L. & CHASTEEN, T.G., 1994. Amending cultures of selenium-resistant bacteria with dimethyl selenone. *Appl. Organomet. Chem.* **8**. 501–508.

Érkezett: 2006. szeptember 19.

Phytoextraction of selenium and occurrence of microbial groups in contaminated soils

^{1a}L. SIMON, ²B. BIRÓ, ³É. SZÉLES and ^{1b}S. BALÁZSY

^{1a}Department of Land and Environmental Management, ^bInstitute of Biology, College of Nyíregyháza; ²Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest and ³Department of Food Science and Technology Centre of Agricultural Sciences, University of Debrecen (Hungary)

Summary

A pot experiment was set up to study the selenium (Se) accumulation of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern., cv. Negro Caballo) and fodder radish (*Raphanus sativus* L. convar. *oleiformis* Pers., cv. Leveles olajretek) grown in a Ramann-type rusty brown forest soil (loamy sand, clay+silt content 15.8%; pH(KCl) 6.6; humus content 1.3%; CEC 18.1 cmolc·kg⁻¹) artificially contaminated with 2.5 mg·kg⁻¹ Se as sodium selenite or sodium selenate. Plant shoots accumulated one order of magnitude less selenium from selenite than from selenate-treated soil. In shoots of selenate-treated Indian mustard and fodder radish cultures 657 and 745 µg·g⁻¹ Se was measured respectively, while the dry matter yield of the plants was reduced by 53–85%. Based on transport indexes it was calculated that 40–50% of the total Se was accumulated in the plant shoots. This could be advantageous, as the shoots of plants are easier to harvest than the roots during soil remediation with plants, known as phytoextraction. The dominant microbe species was *Corynebacterium* in the rhizosphere soil, and *Bacillus* and *Pseudomonas* species were also present. It is supposed that these “plant-growth promoting rhizobacteria” (PGPR) may stimulate the phytoextraction and phytovolatilization of Se in the rhizosphere of the plants.

In spring 1991 a field experiment was set up in Nagyhörcsök (Hungary) to study the long-term effects of 13 heavy metals. The calcareous chernozem formed on loess (pH_{KCl} 7.1–7.4, loamy texture, clay+silt content 75–85%; humus 3–3.5%; CaCO₃ equivalent 3–5%; CEC 30–32 cmolc·kg⁻¹) was contaminated with 0, 30, 90, 270 or 810 kg Se·ha⁻¹ as sodium selenite. Over the course of time the selenite migrated downward (leached) and oxidized to selenate. In autumn 2005 2.3–8.0 mg·kg⁻¹ “total” (extracted with cc. HNO₃+cc. H₂O₂) selenium was found in the upper (0–20 cm) layer of soil. Based on concentration ratios it was found that with increasing soil Se content the Se content in the shoots of alfalfa (*Medicago sativa* L., cv. Anna) increased linearly (85.3–727 µg·g⁻¹). This could be attributed to the deep rooting of alfalfa. All the microbe groups (heterotrophs, spore forming microbes, actinomyceta and microscopic fungi) investigated tolerated the Se concentrations present in the contaminated soils, as their number was similar to that in the uncontaminated control soil. In Se-contaminated soils the dominant microbe species were *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium* and *Bacillus*.

Table 1. Selenium accumulation and dry matter yield of Indian mustard and fodder radish (pot experiment, Nyíregyháza, 2006). (1) Treatments. a) Control. b) 2.5 mg·kg⁻¹ Na-selenite. c) 2.5 mg·kg⁻¹ Na-selenate. (2) Indian mustard. (3) Root. (4) Shoot. (5) Fodder radish. A. Selenium accumulation (µg Se·g⁻¹ dry matter). B. Dry matter

(g·plant⁻¹). *Remarks:* Analysis of variance. Tukey's b-test (n=4). Data within column groups designated by the same letter are not significantly different at P<0.05.

Table 2. Percentage distribution of microbes in the control and Se-treated soils of Indian mustard and fodder radish (pot experiment, Nyíregyháza, 2006). (1) Total number of microbes and microbe groups. a) Total number of microbes (CFU×10⁶/g soil). b) Filamentous fungi. (2) Indian mustard. (3) Control. (4) Fodder radish.

Table 3. Selenium content in the upper soil layer (0–20 cm) (mg·kg⁻¹) and in the hay of alfalfa ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 15 years after the application of Se (small plot long-term field experiment, Nagyhörcsök, 2005). (1) Sample. a) Soil (0–20 cm), b) alfalfa hay. (2) Selenium treatment in spring 1991, kg·ha⁻¹. *Remarks:* Analysis of variance. Tukey's b-test (n=2). Data within rows designated by the same letter are not significantly different at P<0.05.

Fig. 1. Logarithmic values of the average number of microbes (Colony Forming Units) based on 1 g of dry soil in the control and Se-treated upper soil layers (0–20 cm) from Nagyhörcsök. *Remarks:* Analysis of variance. Tukey's b-test (n=6). Data within column groups designated by the same letter are not significantly different at P<0.05. Horizontal axis: (from left to right): heterotrophs, spore-forming microbes, actinomyceta and microscopic fungi.

Fig. 2. Effect of Se (sodium selenite) on the average number of microbe groups in nutrient broth after 14 hours of fermentation with shaking (*in vitro* experiment, Budapest, 2005). *Remarks:* Analysis of variance. Tukey's b-test (n=6). Data within column groups designated by different letters are significantly different at P<0.05. From top to bottom: heterotrophs, spore-forming microbes, actinomyceta and microscopic fungi. Horizontal axis: Se in broth.