

# Lisztbogár fejlődési stádiumain alapuló tesztrendszer kidolgozása környezeti terhelés jellemzésére

Arany József

Debreceni Egyetem, Ökológiai Tanszék,  
4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

e-mail: aranyjozsef1990@gmail.com

**Összefoglaló:** Munkám során lisztbogár egyedek elemösszetételének változását vizsgáltam az egyedfejlődési stádiumokban. Valamennyi egyed azonos minőségű és mennyiségű táplálékra neveltem. ICP – OES módszerrel 10 egyed esetében a következő esszenciális, makro és mikroelemek koncentrációját mértem: Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S, Sr és Zn. Kanonikus diszkriminancia analízissel a fejlődési stádiumok jelentős mértékben (99,2%) elkülönültek egymástól az elemösszetételük alapján. Az első, második és harmadik lárvastádium esetében kisebb átfedést tapasztaltam. Valamennyi általam vizsgált elem tekintetében szignifikáns különbséget (GLM ANOVA) tapasztaltam a stádiumok között. Vizsgálataim azt mutatják, hogy az egyedfejlődési stádiumokban jelentős mértékben különbözik az egyedek elemösszetétele, ezért a szárazföldi környezetet érintő szerves szennyezések hatásának vizsgálatára alkalmasak lehetnek az egyes stádiumok.

**Kulcsszavak:** biológiai indikátor, makro- és mikroelemek, monitorozás, ICP-OES

## Bevezetés

A városiasodás és a különböző emberi tevékenységek negatív hatással lehetnek a szárazföldi ökoszisztéma egészére (Simon *et al.* 2011, 2013, 2014). Az abiotikus környezeti tényezők megváltozásával a városiasodás és az antropogén tevékenységek a talajfauna fajaira is jelentős hatást gyakorolnak (Magura *et al.* 2006, 2010, Bogyó *et al.* 2015). A szárazföldi gerincteleneket sokféleségük, valamint nagy egyedszámuk miatt széles körben alkalmazzák bioindikátor szervezetekként (Lindqvist & Block 1997, Zödl & Wittmann 2003). Populációik egy-egy környezeti tényező változására érzékenyen reagálnak, ezért jelenlétükkel, hiányukkal vagy életmódjukban, szervezetükben bekövetkező változásokkal jelzik az adott környezeti tényező hatását. Ugyanakkor a talajjal, mint élőhellyel való szoros kapcsolatban vannak, melynek következtében akkumulálhatják a környezetükben fellelhető toxikus szerves, illetve szervesetlen komponenseket (Nakamura & Taira 2005).

Vizsgálataimhoz lisztbogár egyedeket (*Tenebrio molitor* L.) használtam. A lisztbogár egyedek kiválóan alkalmasak laboratóriumi vizsgálatokra, mivel rövid az életciklusuk, egyértelműen elkülönülnek a fejlődési stádiumaik és gyors rep-

rodukciónkat tekintve jól alkalmazhatóak bioindikátor szervezetekként a környezetterhelések vizsgálatára (Castilla *et al.* 2010). Számos korábbi tanulmányban alkalmazták a lisztbogarakat és lárváikat indikátor szervezetként (Pedersen *et al.* 2008, Castilla *et al.* 2010). Vizsgálatomban az elemösszetétel változását tanulmányoztam az egyedfejlődés különböző stádiumaiban. Annak a megállapítása volt a célom, hogy mely elemek milyen stádiumokban játszanak fontos szerepet.

## Módszerek

### *Lisztbogár tenyésztés*

Laboratóriumban tenyésztett populációból 60 első stádiumú lárva egyedet választottam ki, melyeket műanyag tenyészedényben neveltem tovább. Az egyedfejlődés stádiumait három különböző műanyag tenyészedényben tanulmányoztam, azaz három ismétléssel dolgoztam. Minden tenyészedényt azonos környezeti feltételek mellett tartottam. A bábokat a tenyészedényben belül kisebb edényben neveltem tovább, mivel a kannibalizmus szintje magas (25–35%) a lisztbogár populációkban (Sonleitner & Guthrie 1991). Az átlagos hőmérséklet 27 °C és a páratartalom 80% volt. A megfelelő páratartalom biztosításához desztillált vizes permetet alkalmaztam kétnaponta. A lárvákat és a kifejlett bogarakat azonos típusú és mennyiségű táplálékkal ettettem kétszer egy héten (Simon *et al.* 2013). A táplálékot burgonya porból állítottam elő. Minden esetben 5,00 g burgonyaport mértem be és összekevertem 20 ml desztillált vízzel.

### *Minta feldolgozás és elemanalízis*

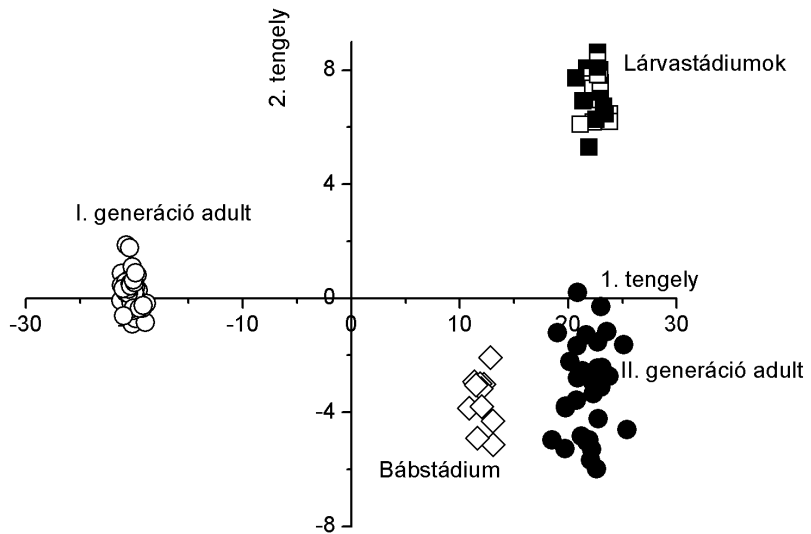
A három lárvastádiumból, a bábokból és kifejlett egyedekből 10–10 egyedet véletlenszerűen választottam ki az elemzéshez. A feldolgozásig a mintákat fagyasztoóban -15°C-on tároltam. A mintákat egyenként műanyag szitára helyezve 100 ml kettős ionmentes vízzel öblítettem át. A lárvák első, második és harmadik stádiumú mintáinál az egyedenkénti kis tömeg miatt átlagmintával dolgoztam. A mintákat 25 ml-es főzőpoharakba helyeztem és a bábok és a bogarak nedves testtömegét azonnal lemértem. A mintákat egy éjszakán át 105 °C-on szárítottam majd a bábok és bogarak tömegét visszamértem a száraz tömegük meghatározásához. A lárvák száraz tömegét SARTORIUS LE 26P mikro-analitikai mérleggel mértem. Ezután a mintákat főzőpoharakban 2 ml 65% (m/m)-os salétromsavval (Scharlau) tártam fel. A lárvák második és harmadik stádiumú egyedeinél 0,5 ml 30% (m/m)-os hidrogén-peroxidot is alkalmaztam. A feltárást 80 °C-on 4 órán keresztül végeztem majd a roncsolt mintákat 1% (m/m)-os salétromsav hozzáadásá-

val 5 ml-re hígítottam az első és második stádiumú lárvák esetében, míg 10 ml-re a harmadik lárvastádium, bábok és bogarak esetében ( Braun *et al.* 2009, 2012).

Az elemanalízist CETAC 45 000 AT + ultrahangos porlasztóval ellátott ICP-OES IRIS Intrepid II XSP készülékkel végeztem. Hét pontos kalibrációt végeztem (0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 és 1,0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) több-elemes kalibráló oldattal (Merck ICP többelemes standardoldat IV). A megfelelő elemek analízisét két, illetve három atomos / ionos vonallal végeztem. Alkálifémek (például Li, Na és K) esetében egyvonalas analízist használtam. A kiválasztott színképvonalak esetében spektrális zavarást nem tapasztaltam.

### Statistikai elemzés

A varianciák homogenitását Levene próbával ellenőriztem. A különböző egyedfejlődési stádiumok elemösszetételét kanonikus diszkriminancia analízissel (CDA) és varianciaanalízis (ANOVA) alkalmazásával vizsgáltam. Azokban az esetekben, ahol szignifikáns különbséget tapasztaltam Tukey-tesztet végeztem a különbség szignifikanciájának vizsgálatához.

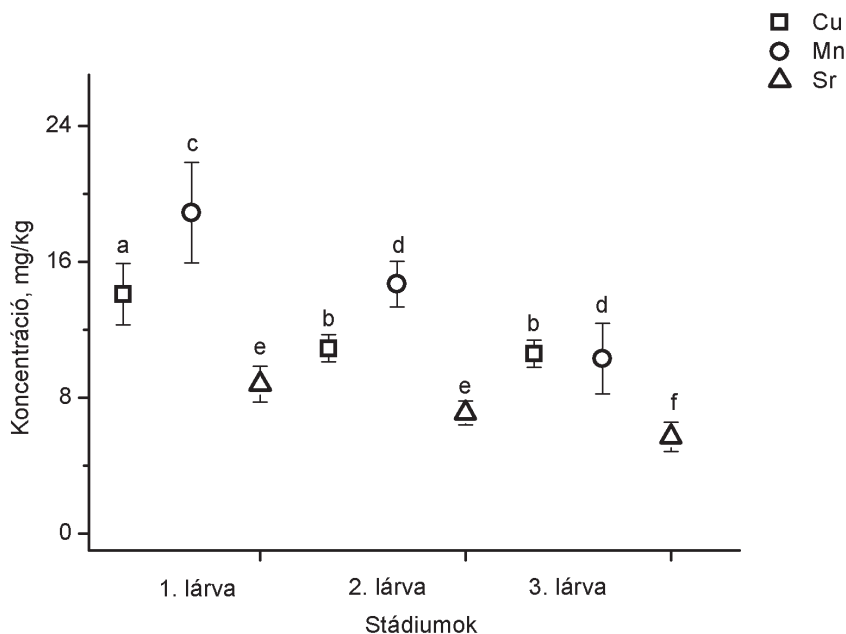


**1. ábra.** Lisztbogarak egyedfejlődési stádiumainak diszkriminancia-analízise a stádiumokban mért elemösszetétel (mg/kg) alapján.

## Eredmények

Az egyes fejlődési stádiumok elemösszetételük alapján 99,2%-ban elkülönülnek egymástól kanonikus diszkriminancia analízissel (1. ábra). A különböző fejlődési stádiumok szignifikánsan különböznek egymástól a vizsgált elemek koncentrációjában ( $p < 0,001$ ).

A vizsgált makro és mikroelemek közül a kálium, a nátrium és a kalcium koncentráció pozitívan korrelált az első diszkriminancia tengellyel (K:  $r = 0,754$ ; Na:  $r = 0,510$ ; Ca:  $r = 0,268$ ), míg a réz ( $r = -0,450$ ) negatívan korrelált a második diszkriminancia tengellyel. A magnézium esetében negatív korrelációt ( $r = -0,506$ ), míg a vas ( $r = 0,616$ ), cink ( $r = 0,569$ ), mangán ( $r = 0,494$ ) és stroncium ( $r = 0,381$ ) esetében pozitív korrelációt tapasztaltam a harmadik és negyedik diszkriminancia tengellyel. A kén ( $r = 0,630$ ) és foszfor ( $r = 0,616$ ) koncentrációk az ötödik diszkriminancia tengellyel korreláltak pozitívan.

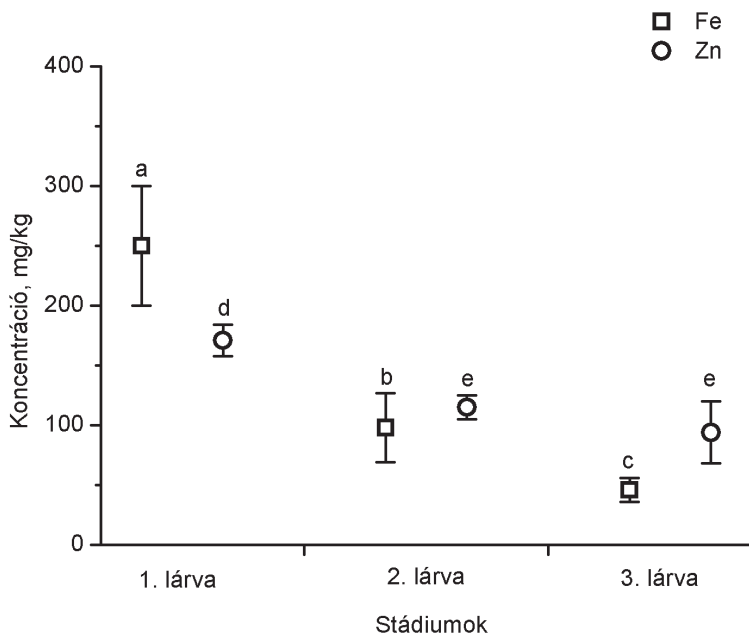


2. ábra. A lárvastádiumokban mért Cu, Mn és Sr koncentráció (átlag  $\pm$  SD).

Szignifikáns különbséget tapasztaltam valamennyi elem esetében az egyes egyedfejlődési stádiumok között varianciaanalízist alkalmazva (Ca:  $F_{5,18} = 677,440$ ;  $p < 0,001$ ; Cu:  $F_{5,18} = 375,792$ ;  $p < 0,001$ ; Fe:  $F_{5,18} = 61,281$ ;  $p < 0,001$ ; K:  $F_{5,18} = 3393,101$ ;  $p < 0,001$ ; Mg:  $F_{5,18} = 670,138$ ;  $p < 0,001$ ;

Mn:  $F_{5,18} = 179,905$ ;  $p < 0,001$ ; Na:  $F_{5,18} = 1609,121$ ;  $p < 0,001$ ; P:  $F_{5,18} = 324,606$ ;  $p < 0,001$ ; S:  $F_{5,18} = 214,162$ ;  $p < 0,001$ ; Sr:  $F_{5,18} = 214,162$ ;  $p < 0,001$ ; Zn:  $F_{5,18} = 324,606$ ;  $p < 0,001$ ). Tukey-teszt alapján megállapítható, hogy az első lárvastádiumtól a harmadik stádium kifejlődéséig szignifikánsan csökkent a vas és a cink, a mangán és a réz, valamint a stroncium koncentrációja ( $p < 0,05$ ) (2. ábra és 3. ábra). A kalcium esetében ez a csökkenés a bábállapotig tart. A többi elem (kálium, magnézium, nátrium, foszfor) esetében szignifikáns különbséget nem tapasztaltam a lárvastádiumok között ( $p > 0,05$ ). Szignifikánsan csökkent a kálium, a nátrium, a kén és a stroncium, valamint a foszfor koncentrációja a lárvastádiumhoz képest a bábállapot kialakulásáig ( $p < 0,05$ ). A cink és a mangán esetében a harmadik lárvastádiumban mért koncentráció megegyezett a bábállapotban mért koncentrációval ( $p > 0,05$ ), míg a vas és cink koncentráció szignifikánsan magasabb volt az első stádiumban, mint a bábállapotban ( $p < 0,05$ ). Valamennyi elem koncentrációja szignifikánsan különbözött a lárvastádium és az első generációjú adult egyedek között ( $p > 0,05$ ).

A bábállapotban mért elemek koncentrációja szignifikánsan különbözött mind az első, mind a második generációjú egyedekben mért elemkoncentrációktól ( $p > 0,001$ ), kivéve a vas és cink koncentrációját. A vas esetében szignifikánsan



3. ábra. A lárvastádiumokban mért Fe és Zn koncentráció (átlag  $\pm$  SD).

nagyobb koncentrációt tapasztaltam az első generációjú adult egyedekben, mint a bábokban, illetve a második generációjú egyedekben ( $p < 0,001$ ). Ezzel szemben a cink koncentráció a bábállapotban és a második generációjú egyedekben szignifikánsan nagyobb volt, mint az első generációjú egyedekben ( $p < 0,001$ ).

Összehasonlítva az első és második generációjú adult egyedek elemösszetételét, megállapítható, hogy szignifikánsan csökkent a második generációban a kalcium, a vas és magnézium koncentráció ( $p < 0,001$ ). Ezzel szemben a többi elem esetében szignifikáns koncentráció növekedést tapasztaltam összevetve az első és második generációjú egyedek elemösszetételét.

## Értékelés

Lisztbogarak egyedfejlődése során az egyes egyedfejlődési stádiumokban bekövetkező elemösszetétel változásokat tanulmányoztam. Célom annak megállapítása volt, hogy az egyes stádiumokon alapuló teszrendszer alkalmas-e a toxikus szervesetlen környezeti terhelések monitorozására.

Korábbi vizsgálatokból megállapítható, hogy a cink és a kálium hatással lehet a lisztbogár egyedek növekedésére és túlélésére. Kálium hatására az első vedlési periódusig normál növekedés, majd utána csökkent növekedés figyelhető meg. Mindkét elem (cink és kálium) a növekedés ütemére lárva stádiumban van hatással (Fraenkel 1958). Lindqvist & Block (1997) kutatásaik során azt állapították meg, hogy a cink koncentrációja nem változott az egyedfejlődés során. A többi elem esetében az adult és lárvastádiumok között megváltozik az elemkoncentráció (Lindqvist & Block 1997).

Összességében vizsgálataim azt mutatják, hogy a rovarok egyedfejlődési stádiumaiban jelentős mértékben megváltozik az egyedek elemösszetétele. Eredményeim bizonyítják, hogy a fejlődési stádiumok erősen hatnak a makro- és mikroelem felvételre. Vizsgálatom eredményei felhasználhatók környezeti terhelések becslésére szolgáló eljárások kidolgozásához és a környezeti terhelések monitorozásához.

*Köszönetnyilvánítás* – a kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

## Irodalomjegyzék

- Bogyó, D., Magura, T., Simon, E. & Tóthmérész, B. (2015): Millipede (Diplopoda) assemblages alter drastically by urbanisation. – *Landscape. Urban Plan.* **133**: 118–126.
- Braun, M., Simon, E., Fábrián, I. & Tóthmérész, B. (2009): The effects of ethylene glycol and ethanol on the body mass and elemental composition of insects collected with pitfall traps. – *Chemosphere* **77**: 1447–1452.
- Braun, M., Simon, E., Fábrián, I. & Tóthmérész, B. (2012): Elemental analysis of pitfall-trapped insect samples: effects of ethylene glycol grades. – *Entomol. Exp. Appl.* **143**: 89–94.
- Castilla, A. M., Dauwe, T., Mora, I., Malone, J. & Guitart, R. (2000): Nitrates and herbicides cause higher mortality than the traditional organic fertilizers on the Grain Beetles, *Tenebrio molitor*. – *B. Environ. Contam. Tox.* **84**: 101–105.
- Fraenkel, G. (1951): Effect of distribution of vitamin B<sub>12</sub>. *Arch. Biochem. Biophys.* **34**: 457–467.
- Lindqvist, L. & Block, M. (1997): Influence of life history and sex on metal accumulation in two beetle species (Insecta: Coleoptera): – *Bull. Environ. Contam. Tox.* **58**: 518–522.
- Magura, T., Lövei, G. & Tóthmérész, B. (2010): Does urbanization decrease diversity in ground beetle (Carabidae) assemblages? – *Global Ecol. Biogeogr.* **19**: 16–26.
- Magura, T., Tóthmérész, B. & Lövei, G. (2006): Body size inequality of carabids along an urbanization gradient. – *Basic Appl. Ecol.* **7**: 472–482.
- Nakamura, K. & Taira, J. (2005): Distribution of elements in the millipede, *Oxidus gracilis* C. L. Koch (Polydesmida: Paradoxosomatidae) and the relation to environmental habitats. – *BioMetals* **18**: 651–658.
- Pedersen, S. A., Kristiansen, E., Andersen, R. A. & Zachariassen, K. E. (2008): Cadmium is deposited in the gut content of larvae of the beetle *Tenebrio molitor* and involves a Cd-binding protein of the low cysteine type. – *Comp. Biochem. Physiol.* **148**: 217–222.
- Simon, E., Baranyai, E., Braun, M., Cserhádi, Cs., Fábrián, I. & Tóthmérész, B. (2014): Elemental concentrations in deposited dust on leaves along an urbanization gradient. – *Sci. Total Environ.* **490**: 514–520.
- Simon, E., Baranyai, E., Braun, M., Fábrián, I. & Tóthmérész, B. (2013): Elemental concentration in mealworm beetle (*Tenebrio molitor* L.) during metamorphosis. – *Biol. Trace Elem. Res.* **154**: 81–87.
- Simon, E., Braun, M., Vidic, A., Bogyó, D., Fábrián, I. & Tóthmérész, B. (2011): Air pollution assessment based on elemental concentration of leaves tissue and foliage dust along an urbanization gradient in Vienna. – *Environ. Pollut.* **159**: 1229–1233.
- Simon, E., Vidic, A., Braun, M., Fábrián, I. & Tóthmérész, B. (2013): Trace element concentrations in soils along urbanization gradients in the city of Wien, Austria. – *Environ. Sci. Pollut. R.* **20**: 917–924.
- Sonleitner, F. J. & Guthrie, P. J. (1991): Factors affecting oviposition rate in the Flour Beetle *Tribolium castaneum* and the origin of the population regulating mechanism. – *Res. Popul. Ecol.* **33**: 1–12.
- Zödl, B. & Wittmann, K. J. (2003): Effects of sampling, preparation and defecation on metal concentrations in selected invertebrates at urban sites. – *Chemosphere* **52**: 1095–1110.

## Elemental contents in flour beetles (*Tenebrio molitor* L.) during the life cycle

József Arany

*Department of Ecology, University of Debrecen,  
H-4010 Debrecen, P. O. Box 71, Hungary  
e-mail: aranyjozsef1990@gmail.com*

The aim of my study was to investigate the macro- and microelemental contents in three larvae stages, pupae, first and second generation adult stages during the life cycle of flour beetles. The individuals of the laboratory culture were fed with mashed potato during their life cycle. From each stage 10 individuals were selected randomly to the elemental analysis; ICP-OES method was used during the analysis. The following elements were measured: Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S, Sr and Zn. Based on the canonical discriminant analysis of elemental content of flour beetle individuals the stages were separated from each other. In cases of the first, second and third larvae stages, high overlaps were found. The ANOVA showed significant differences between elemental content of the stages during the life cycle of flour beetles. The results of my study show that in the stages of flour beetle, there were significant changes in the micro- and macroelemental contents. My findings suggest that flour beetles stages are useful to assess the effects of environmental contamination.

**Keywords:** toxic elements, biological indicators, monitoring, ICP-OES