

37. OTDK Biológia Szekció

Genotoxikus hatások vizsgálata mikronukleusz teszttel városi környezetben élő kockás siklókon (*Natrix tessellata*)

Molnár Szonja Szilvia

Biológia BSc III. évfolyam

Állatorvostudományi Egyetem

HUN-REN Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Témavezetők

Dr. Mészáros Boglárka

tudományos munkatárs, HUN-REN Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Dr. Szűts Tamás

tudományos főmunkatárs, Állatorvostudományi Egyetem

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	3
Bevezetés.....	4
Célkitűzések	9
Anyag és Módszer	10
A kockás sikló	10
Terepi mintavétel.....	11
Környezeti változók	14
Mikronukleusz teszt	16
Statisztikai analízis	17
Eredmények.....	19
Tájhasználati skálán mért változók hatásai	19
Lokális skálán mért változók hatásai	21
Lineáris struktúrák hatását leíró változók	22
Diskusszió.....	23
Irodalomjegyzék.....	32
Saját munka	35
Köszönetnyilvánítás	35
Egyéb nyilatkozatok.....	35

Rövidítések jegyzéke

AIC – Akaike Information Criterion, Akaike-féle információs kritérium

DDT – diklór-difenil-triklóretán

GLM – General Linear Model, általános lineáris modell

PAH – policiklikus aromás szénhidrogén

VIF – Variance Inflation Factor, variancia növekedési faktor

Bevezetés

Az emberi populáció folyamatos növekedése világszerte a táj nagymértékű átalakulásához, globális környezeti változásokhoz és a biodiverzitás csökkenéséhez vezet. A népesség gyarapodásával párhuzamosan az erőforrások iránti igény is emelkedik, melyek együttesen mélyreható változásokat idéznek elő a földfelszínen. Ennek következtében a Föld felszínének nagyjából 53%-át ember által átalakított környezet borítja, melyet mezőgazdasági területek, úthálózatok, települések és egyéb mesterséges struktúrák alkotnak [1].

A népesség rohamos növekedésének további következménye az urbanizáció ütemének fokozódása, mely az utóbbi évtizedekben egyre jelentősebb [2]. Az urbanizáció vagy városiasodás nem más, mint az emberi települések kialakulásának, sűrűsödésének és növekedésének folyamata [3]. Manapság egyre kevesebb ember él vidéken, mint városi területeken és feltehetően 2050-re a Föld népességének 68%-a városokban fog lakni [4].

Az emberi populáció folyamatos gyarapodása és az ember által módosított területek (városi-, mezőgazdasági területek, stb.) térhódítása fokozza a természetes élőhelyek degradációját és eltűnését. Az újonnan létrejövő, mesterséges területek nagymértékben módosított élőhelyeket jelentenek, ahol az őshonos növény- és állatvilág számára új környezeti tényezők okoznak kihívást. Ilyen stresszfaktor lehet például, hogy egy városi élőhely a környező, vidéki területekhez képest jelentősen magasabb hőmérséklettel jellemezhető. Ezt a jelenséget városi hőszigetnek ('urban heat island effect') nevezzük, melynek kiváltó oka többek között, hogy a magas víztartalmú vegetációborítást felváltják a száraz és sötét színű burkolt felületek, mint járdák, utak és épületek. Ezek a mesterséges felületek alacsonyabb albedóval (az adott felületről visszaverődő napenergia százalékos aránya) rendelkeznek, így különösen a napos órákban nagy mennyiségű napsugarat nyelnek el, mely révén nem csupán az adott felület, de a fölötté lévő légréteg is jelentősen felmelegszik. A jelenség következménye, hogy a városi területek még éjszakánként is magasabb átlaghőmérséklettel rendelkeznek, hiszen a nap folyamán felmelegedett mesterséges felületek nem képesek kellő mértékben lehűlni, még az esti órákban sem [3]. A magasabb környezeti hőmérséklet mellett a városi élőhelyeken az úthálózatok, burkolt felületek és épületek magasabb aránya miatt létrejövő fragmentált élőhelyek [5], valamint mesterséges eredetű habitatok [6], továbbá az emberi aktivitásból származó szennyező anyagok megnövekedett koncentrációja [7] is új környezeti faktorokat jelentenek.

A városi élőhelyeken sokféle, emberi tevékenységből származó szennyezőanyag előfordul, melyek jelen vannak a levegőben, talajban és víztestekben is, így könnyen érintkeznek a

területen élő növényekkel és állatokkal, melyek szervezetébe bejutva akár egészségkárosító hatásokat is kifejthetnek. A környezetben jelenlévő szennyező anyagok legfőbb forrásait a mezőgazdaság, az ipari tevékenységek és a közlekedési eszközök jelentik. A mezőgazdasági tevékenységekből elsősorban különböző kártevőirtó hatású vegyületek, organoklorin és organofoszfor peszticidek, valamint karbamát származékok jutnak a környezetbe. Ezek a kémiai peszticidek általában nem célpont specifikusak, így toxikus hatásukat a nem kártékony élőlények szervezetében is kifejtik. A természetes vízfolyásokba és a talajba is bemosódó kártevőirtó szerek bőrön keresztül, belélegzéssel vagy orális úton az állatok szervezetébe is bekerülnek. Az élővilágra a legnagyobb veszélyt az organoklorin peszticidek jelentik, melyek olyan szénhidrogénből és klórból álló vegyületek, mint például az aldrin, dieldrin és a diklór-difenil-triklóretán (DDT). Az organoklorin kártevőirtó szerek alkalmazásukat követően hosszú ideig hatóképes formában maradnak fenn a környezetben, így annak ellenére, hogy nagyrészt az 1970-es években betiltásra került, a mai napig kimutathatók vizekben, talajban, levegőben és élőlényekben egyaránt, mivel felezési idejük 75 év. Ezek a vegyületek képesek átjutni a biológiai membránok foszfolipid rétegén, ezért az állatok zsírszöveteiben is tudnak akkumulálódni [8]. Az ipari termelői tevékenységekből a legnagyobb mennyiségben festékanyagok összetevői (pl.: anilinek, oldószerek) és gyógyszermaradványok (pl.: antidepresszánsok, antibiotikumok, narkotikumok) kerülnek a környezetbe. Emellett a nehéziparból és a gépjármű forgalomból egyaránt nagy mennyiségben szabadulnak fel policiklikus aromás szénhidrogének (PAH-k), valamint nehézfémek [7]. A PAH-k olyan vegyületek, melyek kettő vagy több, változatos konfigurációkban összekapcsolódó aromás gyűrűvel rendelkeznek, és nem tartalmaznak heteroatomokat vagy szubsztituenseket. Ezek a szerves vegyületek szerves anyagok tökéletlen égésekor keletkeznek. Természetes folyamatok (pl.: erdőtüzek, vulkanikus működés) során is felszabadulhatnak, de mesterséges módon is létrejöhetnek, mint a gépjárművek kipufogógáza, ipari tevékenységek melléktermékei vagy dohánytermékek füstje [9]. A nehézfémek sem biológiai-, sem kémiai módon nem bonthatók le, így könnyen felhalmozódnak vizekben, talajban, üledékes kőzetekben és idővel az élő szervezetekben is [10]. Az emberi aktivitásból származó szennyező anyagok különösen nagy veszélyt jelentenek a vizes élőhelyekre, mivel nem csak a víztestekben és az üledékben, hanem a táplálékláncon keresztül a növényi és állati szervezetekben is képesek felhalmozódni [10, 11].

Az emberi tevékenységből származó szennyező anyagok nagyrésze úgynevezett genotoxikus hatással rendelkezik, mely révén közvetlen módon hat az élőlényekre, akár az emberre is. A genotoxikus hatású anyagok olyan vegyületek, melyek károsítják az élő szervezetek genetikai

anyagát, ezáltal genetikai elváltozásokat, mutációkat és kromoszóma-rendellenességeket okoznak. A sejtek genetikai állományának károsodását a sejtmag alakjának és szerkezetének abnormális elváltozásai, azaz sejtmagdeformitások és a sejtosztódás folyamatának meghibásodása során kialakuló mikronukleuszok jelzik. A mikronukleuszok olyan teljes kromoszómák vagy kromoszóma töredékek, melyek a sejtek osztódását követően maradnak vissza a citoplazmában. Attól függően, hogy adott genotoxikus hatású anyag milyen hatásmechanizmussal működik a sejteken belül, kétféle mikronukleusz-képződési módot különböztethetünk meg. Az aneugenikus hatású anyagok, mint a dohányfüst vagy a fenvalerát (kártévőirtó szer), indirekt módon hatnak az örökítőanyagra, a sejtosztódást befolyásolják. Az osztódási orsó kialakulásának és normális működésének gátlásával számbeli eltérést idéznek elő az örökítőanyagban. A mitotikus orsó meghibásodásának következtében nem valósul meg tökéletesen a kromoszómák szétválása, így az egyik utódsejtben egy teljes kromoszóma marad vissza, mely mikronukleusszá alakul. Az aneugenikus hatás következtében létrejövő mikronukleuszok így tartalmazznak centromérát. Ezzel ellentétben a klasztogén hatású anyagok, mint az arzén (gyógyszeripari alapanyag) vagy a benzol (vegyipari alapanyag) direkt módon károsítják a DNS-t. Az örökítőanyagban szerkezetbeli eltéréseket, töréseket és mutációkat okoznak, melynek következtében kromoszóma töredékek válnak le és az utódsejtekben membránnal határolva mikronukleuszként különülnek el. A mikronukleuszok mennyisége a genetikai sérülések indikátora, valamint a kromoszómakárosodás, genom instabilitás és daganatos elváltozások kialakulásának biomarkereként alkalmazható [12]. A deformált sejtmagok nagyrésze általában a sejtosztódás különböző folyamatainak hibás végbemenetele során jön létre, a kialakult deformitás típusát pedig feltehetően az határozza meg, hogy az osztódás mely reakciójára vagy lépésére hat az adott szennyezőanyag, ám ezen rendellenességek kialakulásának pontos mechanizmusai még nem teljesen ismertek [13, 14].

A környezetben jelenlévő szennyező anyagok genotoxikus hatásának és a miatta kialakult DNS károsodások mértékének felmérésére alkalmas módszer az úgynevezett mikronukleusz teszt. A módszer lényege, hogy adott számú sejtet megfigyelve meghatározható az egészséges sejtmaggal, valamint a deformált (abnormális alakú) sejtmagokkal és mikronukleuszokkal rendelkező sejtek aránya, mely alapján az abnormális elváltozásokkal rendelkező sejtek száma megfeleltethető a genotoxikus hatás, illetve genetikai károsodás mértékével [15]. A mikronukleusz tesztet gyakran alkalmazzák vizes élőhelyek és azok faunájának toxikológiai vizsgálataihoz, mivel könnyen kivitelezhető és relatíve egyszerű eljárásról van szó [14]. Udriou és munkatársai [16] egy magas radonkoncentrációval rendelkező, illetve egy radont nem

tartalmazó tóból gyűjtöttek alpesi tarajosgőtéket (*Triturus carnifex*). A befogott felnőtt egyedektől vérmintát és levedlett bőrmintát, míg a lárvák esetén kopolyú szövetmintát vettek, melyeket egyaránt mikronukleusz teszttel vizsgáltak. Eredményeik szerint a radonban gazdag élőhely egyedeiben, valamint a lárvák kopolyúszövetében több mikronukleuszt találtak. Egy másik tanulmány során Simbula és munkatársai [17] peszticidek hatását vizsgálták mezőgazdasági területeken élő olasz faligyíkokon (*Podarcis siculus*). A befogott gyíkokból vérmintát vettek, melyeken mikronukleusz tesztet végeztek és megállapították, hogy a hagyományos kémiai kártevőirtó szerekkel kezelt területekről származó gyíkok vérében szignifikánsan több mikronukleusz található. Ceyca-Contreras és munkatársai [18] városi és vidéki területről befogott szirti galambokban (*Columba livia*) vizsgálták nehézfémek genotoxikus hatását. Az állatokból vérmintákat vettek, melyek vizsgálatára mikronukleusz tesztet alkalmaztak. Eredményeik szerint a városi területekről származó egyedek vérében szignifikánsan magasabb volt a sérült genetikai állománnyal és mikronukleuszokkal rendelkező sejtek száma. Az említett kutatások bizonyítják, hogy a mikronukleusz teszt egy széles körben – több állatcsoporton és szövettípus sejtjein – alkalmazható, hatékony és elfogadott módszer a különböző környezeti szennyező anyagok DNS károsító hatásának becslésére.

Annak ellenére, hogy az emberi tevékenységből és urbanizációból eredő élőhelyátalakítások és -degradáció, valamint környezetszennyezés a hullók globálisan megfigyelhető csökkenésének egyik fő kiváltója, kevés kutatás irányul a hullókat és kételtűeket érő genotoxikus hatások vizsgálatára [17, 19]. Ismereteink a városiasodásból és az urbanizált környezetből eredő genotoxikus hatásokról főként madarakkal és emlősökkel végzett tanulmányokból származnak, így kevés információ áll rendelkezésre arról, hogy a hullók miként reagálnak ezekre. A hullók érzékenyebbek a környezeti változásokra, mivel csökkent diszperziós képességgel rendelkeznek, így kénytelenek lokális szinten alkalmazkodni ezekhez, valamint ektoterm mivoltuk révén az élőhely hőmérsékletviszonyainak ingadozására is szenzitívebbek [20]. Emiatt a hullók kifejezetten jó bioindikátorként funkcionálhatnak, az őket érő genotoxikus hatások mértéke pedig jelezheti egy adott élőhely szennyező anyagokkal való terheltségét.

Hiányos ismereteink kiegészítésére tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy az intenzív urbanizációval és jelentős emberi jelenléttel terhelt élőhely milyen genotoxikus hatással bír egy városi környezetben élő, kifejezetten vízi életmódot folytató hullőre. A Balaton kiváló modellrendszernek bizonyult kérdéseink megválaszolására, mivel a tó Magyarország egyik fő turisztikai célpontja, így partjára intenzív városiasodás és nagymértékű turisztikai nyomás jellemző. Emellett partjának több, mint felét partvédelmi célból mesterséges kövezéssel

borították [21]. Az urbanizáció és a turizmus termékeként a tóban sokféle genotoxikus hatású szennyezőanyag fordul elő, mint például gyógyszermaradványok, nehézfémek, naptejmaradványok, PAH-k és peszticidek (pl.: deltametrin) [22, 23, 24].

A Balatonban a legjelentősebb koncentrációban PAH-k fordulnak elő, melyek elsődleges forrásai a hajó- és autóforgalomból származó olajmaradványok, festék- és impregnáló anyagok. A déli part iszapos talajában, illetve a kikötők közelében, valamint a talaj felső rétegében az egész tóra nézve szignifikánsan nagyobb mennyiségben mutathatók ki PAH-k, melyek az aljzatban való felhalmozódás miatt könnyen bejutnak az állatok szervezetébe, így a táplálékláncon keresztül is akkumulálódnak. Az intenzív városiasodás és a turisztikai nyomás emelkedése miatt az elmúlt két évszázad során a Balaton PAH tartalma szignifikánsan megnövekedett [25]. Továbbá a Balatonban jelen vannak különböző gyógyszerhatóanyag-maradványok is. 2021-ben egy felmérés [23] 42 különböző hatóanyagot mutatott ki a tóban. Eredményeik alapján a legnagyobb koncentrációkban diklofenák (nemszteroid gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító), koffein (élénkítőszer), ösztromon és ösztrodiol (ösztrogénhormonok) volt kimutatható, valamint ezek koncentrációi szezonális ingadozást is mutattak, a turistaszezon során jelentősen magasabb mennyiségben voltak kimutathatók. Nehézfémek természetes módon is előfordulnak a Balaton vizében, nagyobb mennyiségben viszont antropogén eredetűek és hulladéklerakó helyekről, valamint a gépjármű-, vasút- és hajóforgalom révén jutnak a tóba. Többek között kimutatható a vízben kadmium, higany, réz és ólom is, melyek koncentrációja ugyan nem haladja meg az egészségügyi határokat, a Balaton vízi szervezeteire nézve folyamatos terhelést jelentenek [22].

Modellállatunk a kockás sikló (*Natrix tessellata*) volt, melynek elsődleges élőhelyét jelenti a Balaton partját borító mesterséges kövezés, ahol a szaporodási időszakban akár tömegesen is megfigyelhetők. Egy friss tanulmány [26] eredményei bizonyították, hogy a kockás siklók kifejezetten kedvelik a városi, kövezett partszakaszokat, ahol sokkal nagyobb számban fordulnak elő, mivel feltételezéseink szerint a mesterséges élőhely több búvóhelyet és bőségesebb táplálékforrást biztosít a siklók számára. Ugyan a városi élőhelyek és mesterséges kövezések alkalmas habitatként funkcionálhatnak a kockás siklók számára, Mészáros és munkatársai [27] azt is kimutatták, hogy az urbanizált környezet egyes tényezői, egészen pontosan az úthálózatok sűrűsége és közelsége, negatív hatást gyakorolnak a siklók fejlődési stabilitására. Eredményeik szerint ezek a hatások pozitív összefüggésbe hozhatók a fluktuáló aszimmetria mértékével, amely az egyedfejlődés során az állatokat érő környezeti stressz indikátora.

Célkitűzések

Kutatásunk célja az emberi jelenléthez köthető élőhely-átalakítások genotoxikus hatásainak becslése volt mikronukleusz teszttel balatoni kockás siklókon. Hipotézisünk szerint a Balaton parti zónáját érő fokozott településfejlesztések, mesterséges partvédelmi kövezések kialakítása, kikötők jelenléte és fejlesztése, a természetes nádasok és egyéb vízi növényzettel borított területek irtása és degradációja, valamint a fokozott turisztikai nyomásból eredő szennyező anyagok miatt a tó partján élő kockás siklókat jelentős mértékű genotoxikus hatás éri, mely az állatok vérében magasabb számú mikronukleusszal és deformált sejtmagokkal rendelkező vörösvérsejteket eredményez. Kutatásunk során kérdéseink a következők voltak:

- i. Tájhasználati skálán vizsgálva milyen hatással van a városiasodás mértéke, az út- és vasúthálózatok kiterjedése, a települések mérete, illetve a természetes emergens vízi növényzet (főként nádasok) borítottság a kockás siklókat érő genotoxikus hatás mértékére?
- ii. Lokális skálán vizsgálva milyen hatással van a kikötők mérete, a mesterséges partmenti kövezés és a természetes emergens vegetáció borítottság a kockás siklókat érő genotoxikus hatás mértékére?
- iii. Milyen hatással van a forgalmas utak és vasutak közelsége a kockás siklókat érő genotoxikus hatás mértékére?

Predikcióink szerint tájhasználati skálán vizsgálva az ember által módosított mesterséges (városi) területek mérete, az utak és vasutak területe, illetve a települések mérete pozitívan, míg a természetes vízi növényzettel borított területek kiterjedése negatívan befolyásolja mind a sejtmagdeformitásokat, mind pedig a mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek számát. Emellett azt vártuk, hogy lokális skálán elemezve a mesterséges élőhelyek, mint a kövezések és a kikötők mérete pozitív, míg a természetes vegetáció borítottság negatív hatást gyakorol a sejtmagdeformitásokat és mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek számára. További predikcióink szerint az utak és vasutak közelsége a fokozott járműforgalomból és az ebből eredő fokozott szennyezésből adódóan pozitívan befolyásolja a sejtmagdeformitásokat és mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek számát.

Predikcióinkat arra alapoztuk, hogy az ember által átalakított területek jelentősebb mennyiségű szennyezőanyag jelenlétével jellemezhetők, mint a természetes vegetációval borított élőhelyek, így előbbiek kiterjedése pozitívan, utóbbiaké pedig negatívan hat majd a siklókat érő genotoxikus hatások mértékére.

Anyag és Módszer

A kockás sikló

A kockás sikló (*Natrix tessellata*) Magyarország őshonos és természetvédelmi oltalom alatt álló hüllőfaja. Testük karcsú, 70-100 centiméteres hosszúságú. A hímeket és a nőstényeket a farok hosszúsága, illetve a kloáka alatti farokszakasz alakja és mérete alapján lehet megkülönböztetni. Emellett a nőstény egyedek nagyobbak és robusztusabbak is, mint a hímek [28]. Szemeik nagyok és dülledtek, pupillájuk kerek, íriszük pedig sárgás színű. Változatos megjelenésűek, hátoldaluk alapszíne zöldes-szürkésbarnás, melyet sötét pepitamintázat-szerű foltos díszít. A hasoldaluk világosabb, általában sárgás-piszkosfehér, melyen nagyméretű sötét kockás minta látható (1. Kép). Közele rokonával, a vízisiklóval (*Natrix natrix*) ellentétben szorosan vízhez kötött életet él és ritkán távolodik el a víztől. Táplálékát elsősorban halak jelentik, de néha kétélűeket is elfogyaszt. Párzási időszakuk április végétől május elejéig tart. A tojásrakás nyár közepétől kezdődik. Egy fészekalj 5-25 tojásból áll, melyeket a nőstények a vízpart közelében raknak le faodvakba, nádkupacokba. Természetes predátorai emlősök, madarak és ragadozó halak. Általában nem jellemző rájuk a harapással való védekezés, fenyegetés hatására sziszegéssel, kellemetlen szagú anális váladék kibocsátásával vagy magukat halottnak tettetéssel próbálják elkedvetleníteni támadójukat [29].

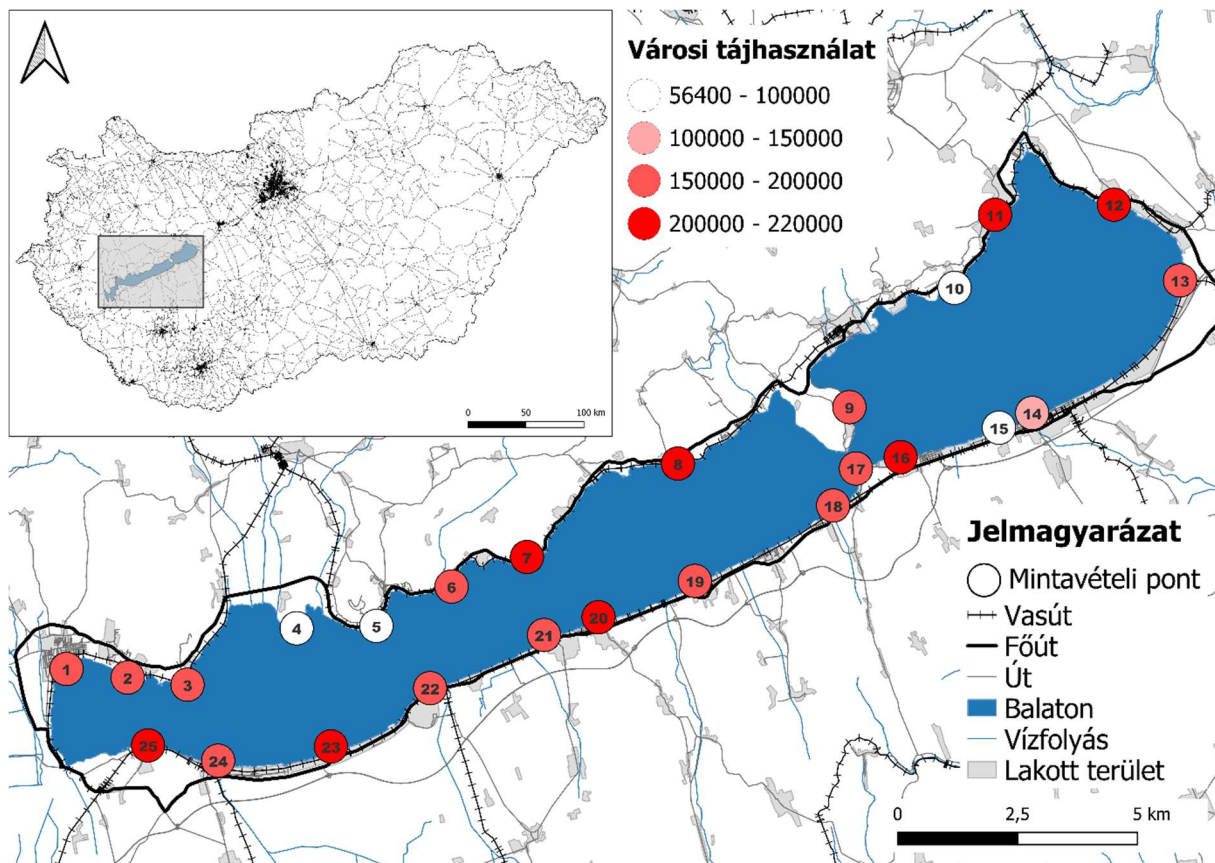
Európában mediterrán elterjedésű, a kontinens déli részein fordul elő. Nyugaton az Appennini-félszigetig, keleten pedig nagyjából Grúzia határáig találkozhatunk vele. Európai elterjedését északon Csehország, míg délen Észak-Egyiptom határolja. Hazánkban foltokban, elsősorban a nagy kiterjedésű, állandó víztestjeink közelében fordul elő, így megtalálható például a Velencei-tó, a Tisza-tó és a Balaton partjainál is. Ugyan régebben nagyobb tömegben volt megfigyelhető, hazánkban most is gyakori faj. Életmódjából adódóan a vizes élőhelyek fogyatkozásával hosszú távon veszélyeztetetté válhat [29].



1. Kép: A kockás sikló (*Natrix tessellata*) megjelenése. Fotó: Dr. Mészáros Boglárka

Terepi mintavétel

Predikcióink tesztelésére a Balaton körül 25 mintavételi helyszínt jelöltünk ki sétányok, strandok és kikötők mesterséges kövezésén (1. Ábra, 1. Táblázat). Minden helyszínen egy 250 méteres transzektet vettünk fel, amelyeket 2024-ben két alkalommal jártunk végig a kockás siklók szaporodási időszakában (április vége – május vége).



1. Ábra: Magyarország térképe (bal felső sarokban) és a vizsgálati terület a Balaton partján kijelölt 25 mintavételi helyszínnel. A mintavételi helyszínek színek kódja a városiasodás mértékét tükrözi (a pufferrónákon belüli városi területek négyzetméterben vett nagysága alapján). A helyszínek nevei és WGS84-koordinátái az 1. Táblázatban olvashatók. Mészáros és mtsai. (2023) nyomán módosítva.

A terepi mintavételben mindig három ember vett részt és minden transzekten 60 percet töltöttünk el, mely során lehetőleg az összes észlelt egyed befogásra került. Mivel a balatoni kockás sikló populációkra több különböző kutatás is irányul, minden befogott siklót egyedi azonosítóval, úgynevezett PIT-tagekkel (Biomark Mini HTP8 és HPR Lite reader; Merck & Co. Inc., Kenilworth, NJ, Amerikai Egyesült Államok) láttunk el. Az egyedi azonosítás által a pszeudoreplikáció mintavételi hibája elkerülhető volt.

A deformált sejtmagokat és mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek számának meghatározásához a befogott siklók farki vénájából egyszerhasználatos, steril inzulinos tűvel (Omnican® 100, B. Braun SE, Hessen, Németország) vérmintát vettünk. Állatjóléti szempontok miatt a 30 centiméternél kisebb testhosszúságú, juvenilis egyedeken nem végeztük el a vérvételt. A vérmintából közvetlenül a vérvétel után egy cseppet tárgylemezre csöppentettünk és egy második tárgylemez használatával kenetet készítettünk. A vérkeneteket egyedi azonosító kóddal láttuk el és száradás után egy percen keresztül metanolba merítve

fixáltuk. A vizsgálathoz minden helyszínről véletlenszerűen kiválasztottunk 3-3 vérkenetet. A 25 mintavételi helyszín közül csak azokat vizsgáltuk, melyeken a 2024-es tavaszi terepszezon során legalább három egyedet sikerült befogni és mintavételezni. Ezért két helyszínt kizártunk az analízisből, így összesen 23 helyszínről 3-3, vagyis összesen 69 vérkenettel dolgoztunk. A terepen fixált keneteket ismételt száradást követően tárgylemeztartókban laboratóriumba szállítottuk, ahol a további feldolgozásuk történt.

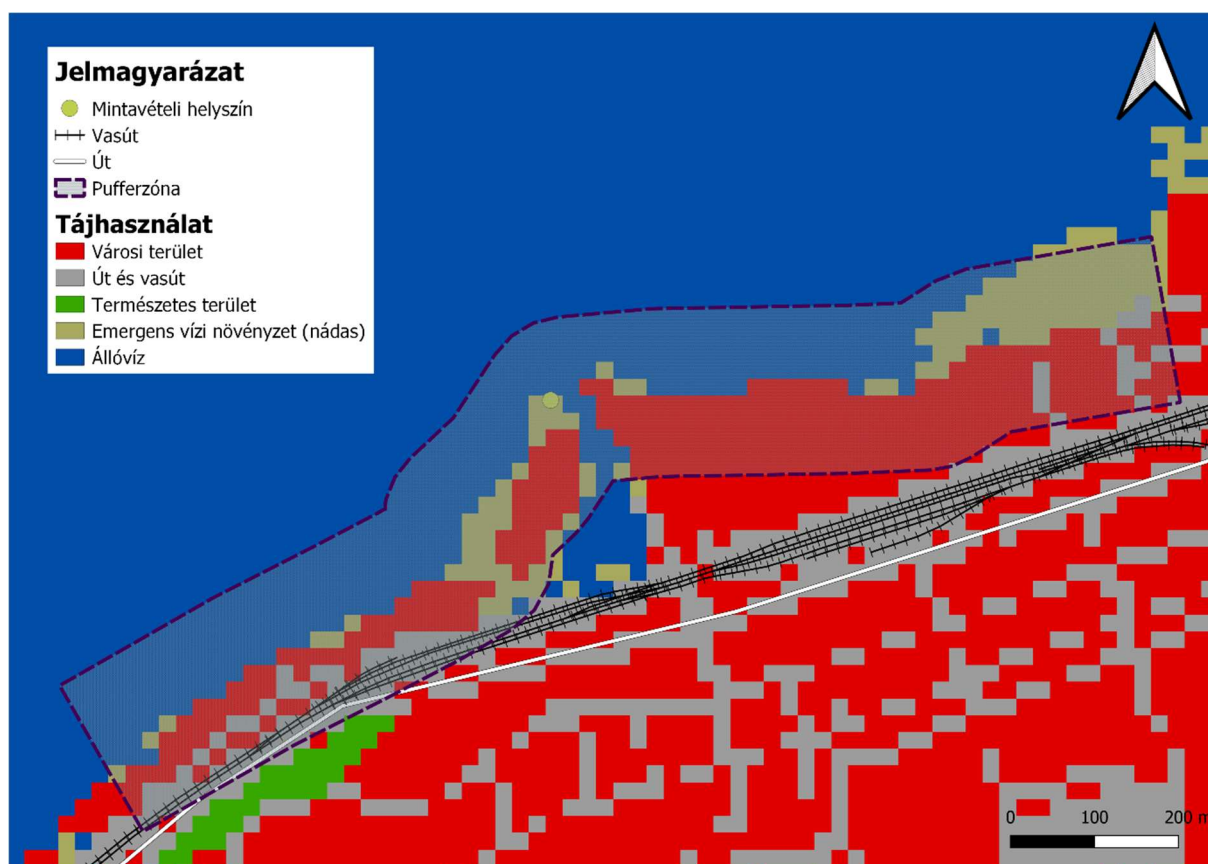
	Helyszín	Szélességi koordináták	Hosszúsági koordináták
1	Keszthely	46,75808	17,25578
2	Vonyarcvashegy	46,75404	17,30598
3	Balatongyörök	46,75074	17,35511
4	Szigliget	46,78382	17,44354
5	Badacsony	46,78604	17,50883
6	Ábrahámhegy	46,80904	17,56983
7	Révfülöp	46,82642	17,63118
8	Balatonakali	46,88050	17,75373
9	Tihany	46,91377	17,89375
10	Alsóörs	46,98178	17,97884
11	Balatonalmádi	47,02318	18,01130
12	Balatonkenese	47,02977	18,10912
13	Balatonaliga	46,98755	18,16419
14	Siófok	46,91190	18,04398
15	Siófok	46,90337	18,01686
16	Zamárdi	46,88605	17,93646
17	Szántód	46,87931	17,89993
18	Balatonföldvár	46,85822	17,88163
19	Balatonszemes	46,81459	17,76917
20	Balatonlelle	46,79324	17,69074
21	Balatonboglár	46,78268	17,64633
22	Fonyód	46,75157	17,55382
23	Balatonfenyves	46,71767	17,47358
24	Balatonmáriafürdő	46,70833	17,38151
25	Balatonberény	46,71608	17,32389

1. Táblázat: A Balaton körül kijelölt 25 mintavételi helyszín neve, sorszáma és WGS84-koordinátái. Mészáros és mtsai. (2023) nyomán módosítva.

Környezeti változók

A környezetet leíró változókat három prediktor csoportba soroltuk. Minden mintavételi helyszínhez meghatároztunk tájhasználati, lokális és a lineáris struktúrák (utak, vasutak) hatását leíró változókat.

A tájhasználati változók felvétele során minden helyszínen a Balaton partvonalával párhuzamosan egy 1000 méter hosszú és 200 méter széles pufferzónát határoztunk meg, melynek egy 100 méteres szélességű szakasza a parton, másik 100 méteres szélességű szakasza a vízben futott (2. Ábra). A pufferzóna méretének meghatározása a kockás síklók diszperziós képessége alapján történt [30]. A pufferzónán belül minden mintavételi helyszín esetében négy tájhasználati változót különböztettünk meg. Felmértük a pufferzónán belüli városi területek (urban), utak és vasutak (road), valamint a vízben álló, azaz emergens vízi növényzettel, főként természetes nádassal borított területek (reed) kiterjedését, illetve az adott település belterületét (citysize) négyzetméterben meghatározva. Az urban változó a városi területeket jelenti, amely magában foglal minden nem természetes, mesterséges struktúrát, mint épületeket, burkolt felületeket, járdákat, utakat és városi parkokat. A road változó a földutak, kövezett utak és vasúti sínek területét jelenti, mellyel a gépkocsi és vasúti járműforgalomból származó szennyező anyagok hatását becsültük meg. A vízi növényzet kiterjedését és hatását a természetes lágyszárú emergens vegetációval – főként nádasokkal – borított területek nagyságával határoztuk meg. A citysize változó a települések belterületét jelenti, mellyel a helyi lakosok, illetve a turistaszezonban odaérkező látogatók számát és az általuk okozott emberi zavarás mértékét becsültük meg.



2. Ábra: Egy példa a Balaton partvonalával párhuzamosan futó 1000 méter hosszú és 200 méter széles pufferzónára, melynek mérete lefedi a kockás síklók diszperziós területét.

A lokális prediktor csoport esetében minden transzekt mentén megbecsültük az emergens vegetáció borítottság százalékos arányát (veg), valamint felmértük a transzekten belüli kövezés területét négyzetméterben (rocks), illetve meghatároztuk a transzektet magába foglaló kikötő területét (harboursize) is, mellyel a hajóforgalom hatását kívántuk megbecsülni.

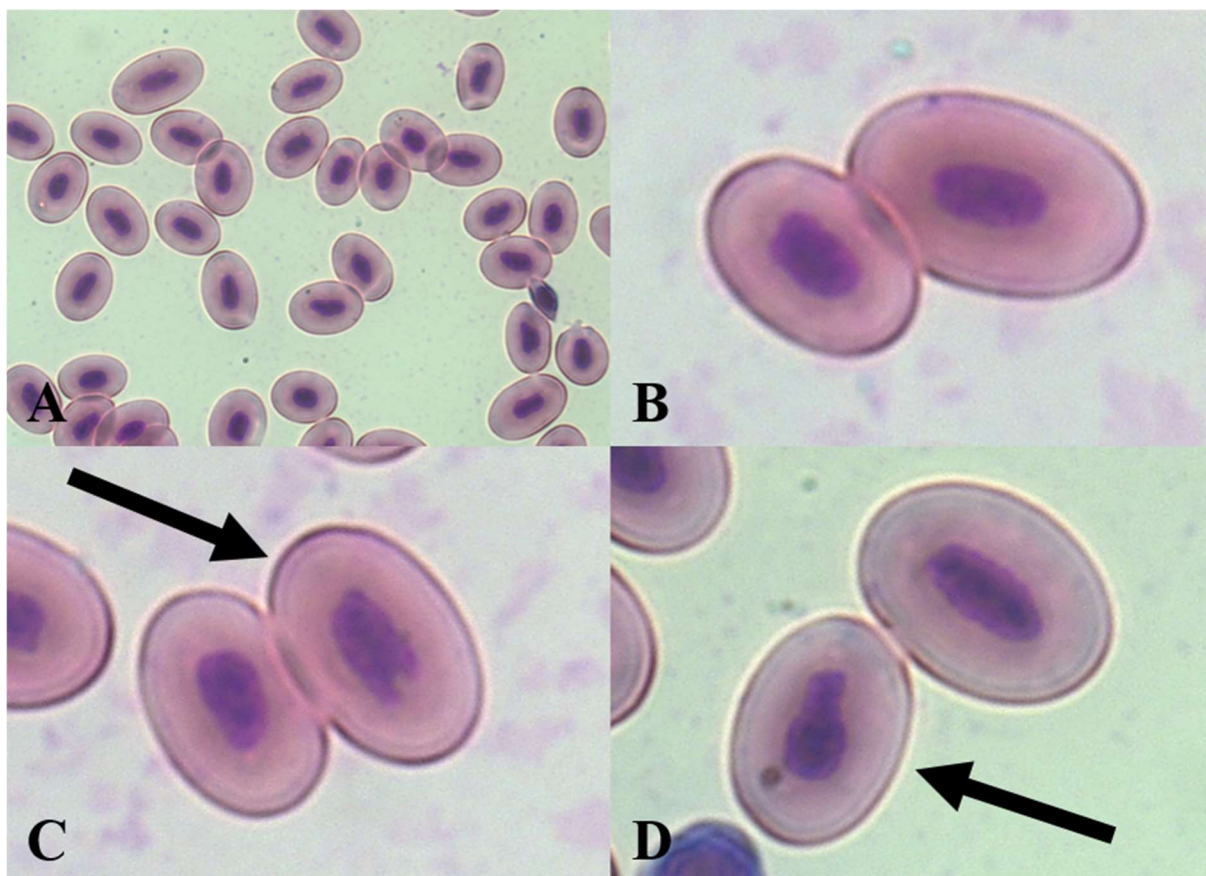
Az autópályák és vasútvonalak nemcsak az elütések fokozott kockázata miatt [31], hanem a járműforgalomból származó szennyező anyagok magas koncentrációja miatt is komoly veszélyt jelentenek a közelükben élő növény- és állatvilágra. A lineáris struktúrákról, mint utakról és vasutakról, jelentős mennyiségű genotoxikus hatással bíró szennyezőanyag mosódhat a vizekbe [9]. Ezen hatás becsléséhez lemértük minden mintavételi hely esetében a transzekt közepétől a legközelebbi vasút (distrailway), út (distroad) és főút (distmainroad) távolságát. A Balaton partja mentén két főút található: az északi parton a 71-es, délen pedig a 7-es főút, amelyek körbeölelik a tavat. Mivel a tó körül ezen a két úton a legnagyobb a forgalom, így feltételeztük, hogy ezen két út bírhat a legjelentősebb hatással a kockás síklókat érő szennyező anyagok mennyiségére, így ezek közelsége fontos szerepet játszhat a genotoxikus hatás mértékének meghatározásában.

A tájhasználati és lokális változók meghatározásához, valamint az utaktól, vasutaktól való távolságok felméréséhez a QGIS 3.28.0 programot, illetve Magyarország Ökoszisztéma-alaptérképét [32] használtuk.

Mikronukleusz teszt

A terepen fixált vérkenetek laboratóriumban kerültek megfestésre, melyhez annak érdekében, hogy a sejtmagvak és az egyéb örökítőanyagot tartalmazó képletek jól láthatóvá váljanak, desztillált vízzel hígított 5%-os Giemsa-oldatot használtunk. A tárgylemezek 50 percig álltak a festékoldatban, ezt követően desztillált vízzel eltávolítottuk róluk a festékanyag többletet, majd levegőn hagytuk megszáradni a megfestett vérkeneteket. Száradást követően a keneteket fénymikroszkóppal, 1000-szeres nagyításon, immerziós olaj használatával vizsgáltuk.

A fénymikroszkópos vizsgálat során, 1000 sejtig számolva meghatároztuk a deformált sejtmagot (abnorm), illetve a mikronukleuszt tartalmazó (micronucleus) vörösvérsejtek számát (2. Kép). A mikronukleuszokat és sejtmagdeformitásokat Benvindo-Souza és munkatársai (2020) [13], valamint Frixione és munkatársai (2022) [33] cikkeinek alapján határoztuk meg annyi eltéréssel, hogy a különböző sejtmagdeformitások, mint bleb, notch, bud, stb. típusok között nem tettünk különbséget, mindegyiket a deformált sejtmagok közé soroltuk. A számolásból kizártuk a sérült sejthártyával vagy sejtmaggal rendelkező vörösvérsejteket, illetve azokat a vörösvérsejteket, ahol valamilyen okból kifolyólag (pl.: kosz vagy festékcsozó a tárgylemezen) nem volt egyértelműen meghatározható a hovatartozás. Mivel a kenetkészítés során is előfordulhat, hogy a sejtmagok összenyomódnak, így kizárólag azon sejteket soroltuk a deformált sejtmaggal rendelkező vörösvérsejtek csoportjába, melyek jól meghatározhatók voltak és sejtmagjukon egyértelműen nyúlványok, kitüremkedések vagy bemélyedések láthatók. Az egyedenként meghatározott deformált sejtmagokat és mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek számát helyszínenként átlagoltuk.



2. Kép: Giemsa-val festett kockás síkló vérkenet (A), normális sejtmaggal rendelkező vörösvérsejtek (B), deformált sejtmaggal rendelkező vörösvérsejt (C) és mikronukleuszt tartalmazó vörösvérsejt (D). A keneteket fénymikroszkóppal vizsgáltuk. A képek 1000-szeres nagyításon készültek.

Statisztikai analízis

Mind az állatokat érő genotoxikus hatást becslő, mind a környezetet leíró tájhasználati, lokális és lineáris struktúrák hatásait becslő változók eloszlását Q-Q plot-ok és Shapiro-Wilk-tesztek segítségével vizsgáltuk. Annak érdekében, hogy a független és függő változóink is normális eloszlást közelítsenek, a nem normális eloszlású változókat transzformáltuk, így az abnorm, reed, citysize, distrailway és distmainroad változókon logaritmus, az urban és harboursize változókon négyzetgyök transzformációt végeztünk, míg a micronucleus változó esetében Yeo-Johnson transzformációt [34] alkalmaztunk. A road, veg, rocks és distroad változók normális eloszlást mutattak, így azokon nem végeztünk transzformációt.

A multikollinearitás elkerülésére a független változók közötti korrelációkat a Pearson-féle korrelációs teszt segítségével vizsgáltuk. A független változók között csak a rocks és a harboursize változók esetén állt fenn erős korreláció ($R^2=0,62$), így a harboursize változót kivettük a további elemzésekből. A függő változók között nem volt kimutatható erős korreláció ($R^2=0,06$).

A tájhasználati- és lokális skálán felvett, illetve a lineáris struktúrák hatását leíró környezeti változók abnormális sejtmagokat és mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek számára gyakorolt hatását általános lineáris modellekkel (GLM) vizsgáltuk. Mindkét függő változó (abnorm és micronucleus) esetében a három prediktor csoportnak (tájhasználati skála, lokális skála és lineáris struktúrák hatása) megfelelően három-három, azaz összesen hat modellt építettünk. Az első két modellünkben az abnorm és a micronucleus változók külön-külön, mint függő változók szerepeltek, míg a független változók az urban, road, reed és citysize voltak. A lokális változók hatását vizsgáló két modellben a függő változók szintén az abnorm és a micronucleus változók voltak, külön-külön vizsgálva, míg független változókként a lokális hatásokat leíró veg és rocks változók szerepeltek. A lineáris struktúrák abnorm és micronucleus változókra gyakorolt hatását vizsgáló két modellben a független változóink a distrailway, distroad és distmainroad voltak.

A teljes modellek futtatása után, a legegyszerűbb, de az adatokra legjobban illeszkedő végső modellek megtalálására visszafelé-irányuló modellszelekciót alkalmaztunk, mely az Akaike-féle információs kritérium (AIC) alapján történt, a $\Delta AIC > 2$ kritérium szerint [35].

Modellszelekciót követően minden modellen modelldiagnosztikát végeztünk. A multikollinearitás mértékének meghatározására a variancia növekedési faktor analízist alkalmaztunk ($VIF < 2$) [36]. A homoszkedaszticitást diagnosztikai ábrákkal és Breusch-Pagan teszttel [37] ellenőriztük le (p -érték $> 0,05$). A reziduálisok normális eloszlását Shapiro-Wilk-teszttel, valamint Q-Q plotok vizsgálatával bizonyítottuk. A p -értékek mellett meghatároztuk az egyes változók hatásnagyságait ($\eta^2 = SS_{\text{hatás}} / SS_{\text{teljes}}$, ahol $SS_{\text{hatás}}$ az egy változó hatásának négyzetösszege, míg az SS_{teljes} a modellben lévő összes négyzetösszeg). Ennek megfelelően az $\eta^2=0,01$ kis-, az $\eta^2=0,06$ közepes-, a $\eta^2>0,14$ pedig nagymértékű hatásnagyságnak felelt meg.

Az adatok statisztikai elemzése az R-program és az RStudio használatával történt [38].

Eredmények

Eredményeink alapján elmondható, hogy tájhasználati- és lokális skálán egyaránt a természetes emergens vízi növényzet mutatott pozitív összefüggést a kockás siklókat érő genotoxikus hatás mértékével. Ezzel szemben a városi területek mérete, az utak és vasutak kiterjedése, a települések mérete, a mesterséges kövezés nagysága, illetve az utak és vasutak közelsége nincs szignifikáns hatással a siklókat érő genotoxikus hatás mértékére.

Tájhasználati skálán mért változók hatásai

A tájhasználati változók abnormális sejtmagot tartalmazó vörösvérsejtek számára gyakorolt hatását vizsgáló általános lineáris modell eredményei szerint a pufferrónán belüli, partmenti emergens vegetáció területe pozitív összefüggésben áll a deformált sejtmagokat tartalmazó vörösvérsejtek számával, tehát azokon az élőhelyeken, ahol a vízben álló növényzet – főként a nádasok – területe nagyobb, a siklók vérében több deformált sejtmagot tartalmazó vörösvérsejtet találtunk (2. Táblázat, 3. Ábra). Emellett a pufferrónán belüli városi területek nagysága és a deformált sejtmagok száma között marginálisan szignifikáns, negatív összefüggést találtunk, vagyis azokon a helyszíneken, ahol a városi, mesterséges felületekkel borított területek mérete kisebb volt, az állatok vérében kevesebb deformált sejtmagot tartalmazó vörösvérsejt volt megfigyelhető (2. Táblázat). A tájhasználati változók mikronukleuszt tartalmazó vörösvérsejtek számára gyakorolt hatását elemző modell szerint a partmenti emergens vegetációval borított területek mérete a mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek számával szintén pozitív összefüggést mutatott, tehát a nagyobb kiterjedésű emergens vegetáció borítással rendelkező területeken élő siklók vérében több mikronukleuszt tartalmazó vörösvérsejtet találtunk (2. Táblázat, 4. Ábra).

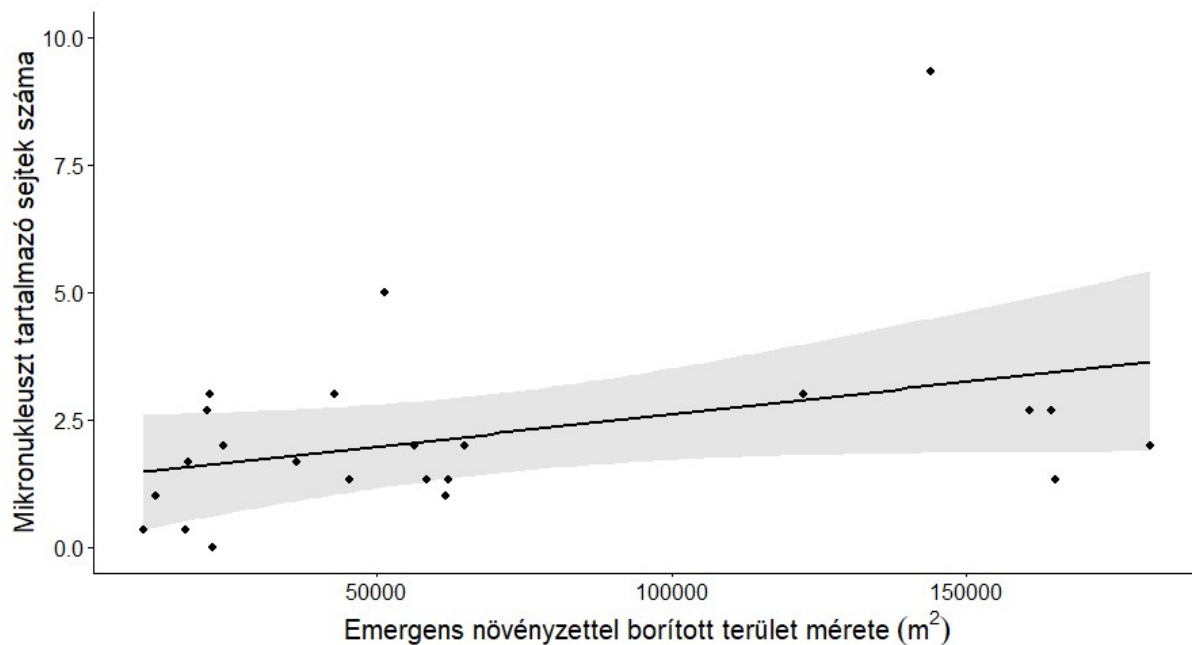
Függő változók	Független változók	β	SE	t	p	η^2	AIC
abnorm	urban	-0,001	0,001	-1,806	0,086	0,107	11,61
	road	0,012	0,019	0,650	0,523	0,014	13,1
	reed	0,254	0,079	3,212	0,004	0,340	11,61
	citysize	0,001	0,125	0,014	0,989	$6,937 \cdot 10^{-6}$	15,1
micronucleus	urban	-0,001	0,001	-0,889	0,385	0,027	25,45
	road	0,016	0,028	0,561	0,582	0,011	27,05
	reed	0,243	0,091	2,677	0,014	0,255	24,34
	citysize	0,183	0,138	1,333	0,198	0,061	24,38

2. Táblázat: A tájhasználati változók hatását vizsgáló általános lineáris modellek eredményei, ahol a függő változók a deformált sejtmagokat tartalmazó (abnorm) és a mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek (micronucleus) száma, a független változók pedig a pufferrónán belüli városi területek (urban), utak (road), emergens növényzet (reed) kiterjedése, valamint az adott település belterülete (citysize). A nem szignifikáns

eredmények az AIC-értékeken alapuló modellszelekció során az eltávolításkor láthatók. A hatásnagyságokat étanégyzettel (η^2) jellemeztük. A szignifikáns eredmények félkövér betűstílussal szerepelnek.



3. Ábra: A deformált sejtmagokat tartalmazó vörösvérsejtek száma és a pufferzónán belüli, emergens vegetációval borított terület mérete közötti kapcsolat. A folytonos vonal a regressziós egyenest, az árnyékolt terület a 95%-os konfidencia intervallumokat mutatja.



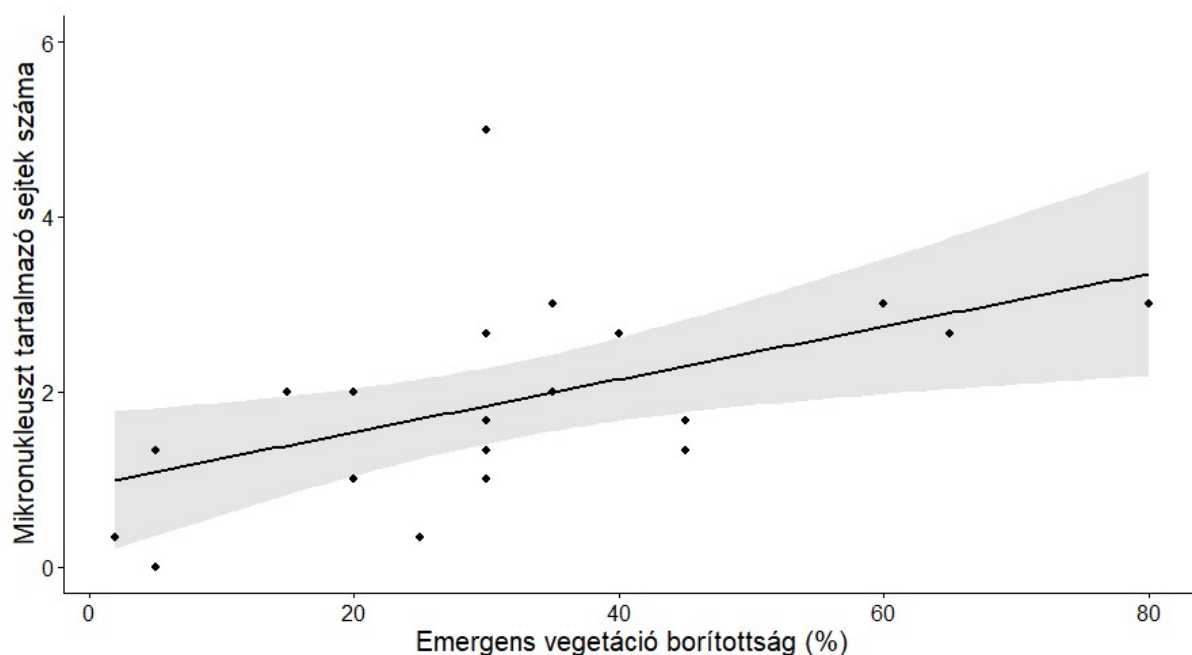
4. Ábra: A mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek száma és a pufferzónán belüli, emergens vegetációval borított terület mérete közötti kapcsolat. A folytonos vonal a regressziós egyenest, az árnyékolt terület a 95%-os konfidencia intervallumokat mutatja.

Lokális skálán mért változók hatásai

A lokális változók és a mikronukleuszt tartalmazó vörösvérsejtek száma közötti kapcsolatot vizsgáló modell alapján elmondható, hogy a transzekten belüli emergens vegetáció borítottság aránya és a mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek száma között pozitív összefüggés áll fenn, tehát a nagyobb arányban növényzettel borított területekről származó egyedek vérében több mikronukleuszt tartalmazó vörösvérsejtet találtunk (3. Táblázat, 5. Ábra).

Függő változók	Független változók	β	SE	t	p	η^2	AIC
abnorm	veg	$-4,87 \cdot 10^{-4}$	0,003	-0,143	0,888	0,001	18,67
	rocks	$-1,613 \cdot 10^{-4}$	$1,04 \cdot 10^{-4}$	-1,552	0,136	0,102	16,7
mikronucleus	veg	0,012	0,003	3,223	0,004	0,342	14,54
	rocks	$8,939 \cdot 10^{-5}$	$1,051 \cdot 10^{-4}$	0,851	0,406	0,024	15,72

3. Táblázat: A lokális változók hatását vizsgáló általános lineáris modellek eredményei, ahol a függő változók a deformált sejtmagokat tartalmazó (abnorm) és a mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek (mikronucleus) száma, a független változók pedig a transzekt menti vegetáció borítottság aránya (veg) és a transzekten belüli kövezés területe (rocks). A nem szignifikáns eredmények az AIC-értékeken alapuló modellszelekció során az eltávolításuk láthatók. A hatásnagyságokat η^2 -négyzettel jellemeztük. A szignifikáns eredmények félkövér betűstílussal szerepelnek.



5. Ábra: A mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek száma és az emergens vegetáció borítottság százalékos aránya közötti kapcsolat. A folytonos vonal a regressziós egyenest, az árnyékolt terület a 95%-os konfidencia intervallumokat mutatja.

Lineáris struktúrák hatását leíró változók

A lineáris struktúrák hatását leíró változók és a deformált sejtmagot, valamint mikronukleuszt tartalmazó vörösvérsejtek száma közötti összefüggéseket analizáló modellek esetében nem találtunk szignifikáns összefüggéseket (4. Táblázat).

Függő változók	Független változók	β	SE	t	p	η^2	AIC
abnorm	distrailway	-0,043	0,079	-0,542	0,594	0,013	19,03
	distroad	-0,001	0,001	-1,318	0,202	0,076	17,36
	distmainroad	0,060	0,093	0,643	0,528	0,019	20,53
micronucleus	distrailway	-0,076	0,127	-0,594	0,559	0,017	25,27
	distroad	$3,89 \cdot 10^{-4}$	0,001	0,653	0,522	0,021	26,75
	distmainroad	-0,101	0,089	-1,139	0,268	0,061	23,67

4. Táblázat: A lineáris struktúrák hatását vizsgáló általános lineáris modellek eredményei, ahol a függő változók a deformált sejtmagokat tartalmazó (abnorm) és a mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek (micronucleus) száma, a független változók pedig a legközelebbi vasút (distrailway), út (distroad) és főút (distmainroad) távolsága a transzekt közepétől. A nem szignifikáns eredmények az AIC-értékeken alapuló modellszelekció során az eltávolításukkor láthatók. A hatásnagyságokat eta-négyzettel (η^2) jellemeztük. A szignifikáns eredmények félkövér betűstílussal szerepelnek.

Diszkusszió

Kutatásunk során mikronukleusz teszt segítségével vizsgáltuk a Magyarországon őshonos és a Balaton partján tömegesen előforduló kockás sikló (*Natrix tessellata*) populációkat. Célunk az volt, hogy megbecsüljük az ember által módosított élőhelyeken, a feltételezhetően nagyobb szennyezőanyag koncentráció miatt kialakuló genotoxikus hatás mértékét egy erősen vízhez kötött életmódot folytató hüllő esetében. Általános lineáris modellekkel elemeztük a kockás siklókat érő genotoxikus hatás mértéke és az intenzív városiasodással és emberi tevékenységgel jellemezhető vizes élőhely környezeti változóinak összefüggéseit. Hipotézisünk szerint azt vártuk, hogy az emberi tevékenységből eredő fokozott szennyezés miatt az állatokat az intenzívebb városiasodással jellemezhető területeken nagyobb mértékű genotoxikus hatás éri. Azonban kiderült, hogy tájhasználati skálán vizsgálva a nagyobb kiterjedésű partmenti emergens növényzettel borított élőhelyeken, valamint lokális skálán a nagyobb arányban emergens vegetációval borított területeken az állatok jelentősebb mértékű genotoxikus hatást szenvednek el, míg habár csak marginálisan szignifikánsan, de a nagyobb mértékben városi területekkel borított élőhelyeken kisebb genotoxikus hatást detektáltunk.

Fő eredményeink szerint, tájhasználati szinten vizsgálva, mind a deformált sejtmagot, mind pedig a mikronukleuszokat tartalmazó vörösvérsejtek száma, és a part mentén található emergens vízi növényzettel, főként nádassal borított területek nagysága között pozitív összefüggés mutatkozott. A Balaton partját borító emergens vegetáció leggyakoribb és sokszor domináns faja a közönséges nád (*Phragmites australis*), ám emellett jelentős mennyiségben találhatók gyékényfélék (*Typha spp.*), sásfélék (*Carex spp.*) és kákafélék (*Schoenoplectus spp.*), valamint a vízi növényzetet foltokban fűz (*Salix spp.*), nyár (*Populus spp.*) és éger (*Alnus spp.*) fajok is tarkítják. Korábbi kutatások kimutatták, hogy ezen partmenti emergens növényzet rendkívül fontos szerepet játszik a vizes élőhelyek működésében, mivel óvja a partvonalat a degradációtól, mikrohabitatok széles választékát biztosítja, táplálékként szolgál számos vízi állat számára, illetve megköti a víztestekbe bemosódó szennyező anyagokat [39].

Az ember által módosított területek növekedése (városi- és mezőgazdasági területek terjeszkedése, út- és vasúthálózatok fejlesztése, ipari területek kialakítása, stb.) és az ezeken a helyeken jelenlévő fokozott emberi tevékenységek következtében nagy mennyiségben jutnak olyan szennyező anyagok a környezetbe, amelyek veszélyeztetik az élővilágot [7, 11]. Ilyen, az állat- és növényvilágra veszélyt jelentő szennyező anyagok a PAH-k, nehézfémek, kártevőirtó szerek és egyéb toxikus vegyületek (gyógyszermaradványok, naptejmaradványok, stb.) [7, 8, 9]. A partmenti vízi makrovegetáció különlegesen nagy jelentőséggel bír ezen szennyező

anyagok kiszűrésében, hiszen képes szerves és szervetlen káros vegyületeket egyaránt felvenni és magában elraktározni [10]. A vízbe az ember által módosított területekről bemosódó- és a levegőbe kerülő szennyező anyagokat a növények kétféle módon vehetik fel: gyökereiken keresztül a talajból vagy leveleiken keresztül a levegőből. A legtöbb szerves szennyezőanyag alacsony volatilitású (illékonyság, párolgási hajlandóság), így főként talajon vagy vízen keresztül lépnek kapcsolatba a növényekkel. A felvétel történhet aktív és passzív transzporttal is, módját pedig elsődlegesen az adott szennyezőanyag fizikai és kémiai tulajdonságai, valamint az adott növényfaj biológiai jellegzetességei határozzák meg [40].

Egy korábbi kutatás során Hejna és munkatársai [41] felmérték a széleslevelű gyékény (*Typha latifolia*), illetve a tőzegpáfrány (*Thelypteris palustris*) nehézfém, elsősorban cink és réz akkumulációs képességét, mivel ez a két elem a leggyakrabban használt a nagyüzemi állattartásban, mint immunrendszer erősítő és támogató készítmények összetevői. A vizsgálat során két gyékényes és két páfrányos, így összesen négy mezokozmoszt hoztak létre. A kétféle mezokozmoszból egyet-egyet 1,5 kilogramm ásványi takarmánykiegészítővel „szennyezték be”, mely kilogrammonként 20,4 milligramm cinket (Olaszországban a maximálisan kibocsátható mennyiség tizennégyszerese) és 4 milligramm rezet tartalmazott. Eredményeik kimutatták, hogy mindkét vizsgált növényfaj nagymennyiségű cinket és rezet volt képes felhalmozni, illetve transzlokálni (a levelektől a többi szerv irányába szétosztatni), miközben a mezokozmoszokban található talaj és víz nehézfémkoncentrációi a kiindulási mennyiségekhez képest jól láthatóan lecsökkentek. Emellett egyik fajon sem voltak megfigyelhetők a toxicitás vizuális jelei, illetve növekedésüket és fejlődésüket nem gátolta látványosan a szennyező anyagok jelenléte. Hasonló vizsgálatot végeztek Prica és munkatársai [42], melyben a közönséges nád nehézfém-felhalmozó képességét mérték fel. A közönséges nád egy széles körben elterjedt és a legtöbb abiotikus tényezővel, valamint nehézfémekkel szemben is magas toleranciát mutató vízi növény. Három, bányászati tevékenységből hátramaradt tóból gyűjtöttek növéymintákat. Eredményeik szerint a legnagyobb nehézfém koncentrációkat a gyökerekből mutatták ki, hiszen elsődlegesen itt történik a szervetlen anyagok felvétele, ám a mangán esetében a levelekben is hasonlóan nagy mennyiségek halmozódtak fel. A Balaton vizében természetes és antropogén eredetű nehézfémek egyaránt jelen vannak, melyek koncentrációja nem kiemelkedően magas, ennek ellenére feltehetően a két említett tanulmányhoz hasonlóan felhalmozódnak a tó partját borító nádasokban és vízi vegetációban [22].

A nehézfémek mellett [22] a PAH-k a Balatonban szintén jelen lévő környezetszennyező anyagok. A PAH-k közül a tóban a legnagyobb mennyiségben pirén és fluorantén mutatható ki.

Alacsony volatilitásuk miatt ezek a vegyületek is könnyen felhalmozódnak a természetes vizek aljzatában és akár a mélyebb üledékes rétegekbe is bejuthatnak. A tó déli medencéjére és partjára jellemző, kis szemcseméretű, homokos-iszapos talajban kifejezetten könnyen képesek akkumulálódni, mivel a laza szerkezetű aljzatban sokkal egyszerűbben és gyorsabban történhet meg a vertikális transzport. A Balatonnál főként a parti régióban, illetve az üledék felsőbb rétegeiben mutathatók ki a PAH-k nagy mennyiségben, így a parti zónában található emergens vegetáció ebből a szennyezett üledékből jelentős mértékben veszi fel ezeket a vegyületeket [25]. Az említett kutatások bizonyítják, hogy a vízi növényzet nagy mennyiségben képes felhalmozni a különböző környezetszennyező anyagokat, ezzel csökkentve mennyiségüket a talajban és a víztestekben.

Mivel az emergens vegetációt alkotó növények a szűrést és felhalmozást követően is a vízben maradnak, a szervezetükben akkumulálódott szennyező anyagok közvetett módon továbbra is képesek lesznek bejutni az állatok szervezetébe, azon keresztül pedig a táplálékláncba, ahol idővel jelentős mennyiségben halmozódnak fel. A szennyező anyagok az elsődleges termelőktől kiindulva a táplálékláncon keresztül a halak szöveteiben is akkumulálódnak [43]. Egy laboratóriumi vizsgálat során D'adamo és munkatársai [11] egy három szintből álló táplálékláncot hoztak létre zöld moszatok (*Dunaliella tertiolecta*), mediterrán kagylók (*Mytilus galloprovincialis*) és farkassügerek (*Dicentrarchus labrax*) segítségével. Céljuk a környezetből (víz és üledék) felvett PAH-k táplálékláncon keresztüli akkumulációjának tesztelése volt. Két 140 literes, folyóvíz rendszerrel ellátott akváriumot állítottak fel az élőlények számára. Az egyik tartályt 95%-os metanolban egyenlő arányokban oldott benzo(a)pirénnel és 7,12-dimetilbenz(a)antracénnel kezelték, míg a kontroll akváriumba tiszta metanol került, melyet követően 75 napon keresztül állt fenn a kísérlet. Eredményeik kimutatták, hogy a kezelt akváriumban mind a kagylók, mind a halak szervezetében jelentősen felhalmozódott mindkét alkalmazott szennyezőanyag, mely a mediterrán kagyló esetében a kiindulási érték kétszeresét jelentette. Egy másik tanulmány során Akinsanya és munkatársai [44] Nigériában egy halászati tevékenységgel és egy olajkitermelési tevékenységgel jellemezhető vizes élőhelyen vizsgálták a PAH-k bioakkumulációját. Mindkét területről mintákat gyűjtöttek a vízből, az üledékből, valamint üledéklakó gerinctelenekből és az ezekkel táplálkozó, aljzatközei halak szöveteiből, majd laboratóriumban megállapították a minták PAH koncentrációját. Eredményeik kimutatták, hogy a jelenlévő PAH-k szignifikáns része (91,28%) az üledékben halmozódott fel, illetve, hogy a táplálékláncon keresztül ezek a vegyületek az üledéklakó gerinctelenekben és az őket fogyasztó halakban is akkumulálódtak.

Ionescu és munkatársai [45] Romániában az Arges- és a Colentina-folyónál négy különböző mintavételi helyen vizsgálták a vízben, az üledékben, valamint a folyókban előforduló hat halfaj (*Alburnus alburnus* – szélhajtó kűsz, *Carassius gibelio* – ezüstkárász, *Scardinius erythrophthalmus* – vörösszárnyú keszeg, *Ameiurus nebulosus* – törpeharcsa, *Perca fluviatilis* – csapósügér, *Lepomis gibbosus* – naphal) egyedeiben akkumulálódott nehézfémek (réz, nikkel, kadmium, ólom, króm, cink, higany) mennyiségét. Eredményeik szerint a vizsgált halfajok a vízből jelentős mennyiségben halmoztak fel nehézfémeket, de a cinket és a nikkelt az üledékből is képesek voltak akkumulálni. Egy további tanulmány [43] során Észak-Lengyelország három alacsony vízminőséggel jellemezhető horgásztavában élő bodorkák (*Rutilus rutilus*) és csapósügérek (*Perca fluviatilis*) vázizom szövetében, kopolyájában és májában felhalmozódott fémek koncentrációit vizsgálták (elsősorban humán táplálkozási vonatkozásban). A három horgásztó nagymértékben urbanizált területeken található és jelentős emberi zavarással jellemezhető. Eredményeik szerint az egyes fémek szöveten belüli koncentrációit nézve a nehézfémek legnagyobb mennyiségben a májban fordultak elő mindkét halfajnál. Egy friss tanulmány során Nędzarek és Czerniejewski [46] a Balti-tenger lengyelországi partjánál három területről fogott feketeszájú gébek (*Neogobius melanostomus*) izomszövetében, kopolyájában, májában és ivarszerveiben felhalmozódott nehézfémek koncentrációit vizsgálták. A három víztest nehézfém tartalma között szignifikáns különbségeket mutattak ki. Eredményeik szerint a legmagasabb nehézfém-koncentrációval jellemezhető élőhelyről származó egyedekben volt a legnagyobb mértékű a felhalmozódás.

A kockás siklók ragadozó állatok és elsősorban halakkal, többek között szélhajtó kűszel (*Alburnus alburnus*), gébfélékkel (*Gobiidae sp.*) és csapósügérral (*Perca fluviatilis*) táplálkoznak [47]. Feltételezésünk szerint a halakban jelenlévő szennyező anyagok a siklók szervezetében is akkumulálódnak és biomagnifikálódnak, így a vízbe bemosódó szennyező anyagok a kockás siklókön közvetett módon fejtik ki genotoxikus hatásukat. Ezen elméletünket alátámasztja egy korábbi tanulmány [48], mely során Mote és munkatársai egy tengerikígyó fajon (*Hydrophis schistosus*) vizsgálták PAH-k bioakkumulációját és eredményeik kimutatták, hogy ezen vegyületek a legnagyobb koncentrációban a bélben halmozódtak fel.

Az említett tanulmányok és azok eredményei alátámasztják feltételezésünket, miszerint a partmenti vízi makrovegetáció által felhalmozott különböző szennyező anyagok bejutnak a táplálékláncba, ahol felfelé haladva akkumulálódnak és biomagnifikálódnak, ezért a nagy kiterjedésű emergens vegetációval borított területeken élő siklók szervezetében nagyobb

mennyiségben halmozódhatnak fel a szennyező anyagok, így az őket érő genotoxikus hatás mértéke is nagyobb.

További eredményeink szerint az ember által létrehozott mesterséges területek, mint a városi tájhasználat mértéke, az utak területe és a települések mérete, valamint lokális skálán a mesterséges kövezéssel borított partoldal sem volt szignifikáns pozitív hatással egyik genotoxikus hatás mértékét becslő változónkra sem. Sőt, predikcióinkkal ellentétben a városi tájhasználat mértéke marginálisan szignifikáns, negatív összefüggést mutatott a deformált sejtmagot tartalmazó vörösvérsejtek számával, azaz a nagyobb kiterjedésű városi területekkel rendelkező élőhelyeken a deformált sejtmagokat tartalmazó vörösvérsejtek száma alacsonyabb volt. Ezen tendencia alátámasztja a partmenti emergens vízi növényzet és az állatokat érő genotoxikus hatás közötti pozitív összefüggést. Elképzelhető, hogy mivel azokon az élőhelyeken, ahol nagyobb kiterjedésűek a városi területek, az emergens vegetációborítás kisebb mértékű, így a növényzeten keresztül felhalmozódó szennyező anyagok mennyisége és genotoxikus hatása is alacsonyabb. Továbbá ezeken az élőhelyeken a siklók táplálékát az inkább a köves partoldalakhoz vonzódó halfajok jelentik, így itt magukban a halakban sem akkumulálódik annyi szennyezőanyag, mint a nádasokat preferáló fajoknál.

Végül a lineáris struktúrák hatását vizsgáló eredményeink sem támasztották alá predikciónkat, miszerint az utakhoz és vasutakhoz közelebb eső élőhelyeken nagyobb genotoxikus hatás éri az állatokat a fokozott járműforgalomból eredő szennyező anyagok miatt. Habár több tanulmány is bizonyítja, hogy az utakról a tökéletlen égés miatt nagyon sok PAH [9], illetve a gumiabroncsok és fékek kopása miatt sok nehézfém [49] is bemosódhat a vizekbe, a mi eredményeink nem mutatnak pozitív összefüggést. Ennek feltételezhetően egyik oka a kevés mintaelemszám, illetve elképzelhető, hogy az emergens vegetáció kifejezetten jó szűrőhatása miatt az utakról és vasutakról lemosódó anyagokat is felfogja, így azok hatása kevésbé érvényesül közvetlen módon.

Összességében eredményeink alapján elmondható, hogy a tápláléklánc csúcsán található ragadozó fajt, a kockás siklót, feltételezhetően a trofikus láncon keresztül felhalmozódva nagymértékű genotoxikus hatás éri, mely a Balatont érő fokozott emberi zavarásból eredhet. Továbbá eredményeink közvetett bizonyítékként szolgálnak arra, hogy az emergens vegetáció rendkívül fontos szerepet tölt be a vizes élőhelyek működésében a szennyezőanyag akkumuláló tevékenységével, mellyel nagy mennyiségű káros vegyülettől szabadítja meg a víztesteket és az üledéket is. Ezen növények hiányában feltehetőleg jóval magasabb koncentrációban lennének jelen a szennyező anyagok a vizekben, így kártékony hatásuk is sokkal erőteljesebben

érvényesülne mind a vízi élővilágon, mind a víztesteket használó embereken is. Emiatt rendkívül fontos a természetes vizes élőhelyeken az emergens vegetációval borított területek védelme. Bezárólag, korábbi kutatások és eredményeink egyaránt alátámasztják, hogy a kockás sikló alkalmas bioindikátor faj lehet a Balatont, illetve Magyarország többi vizes élőhelyét érintő szennyező anyagok genotoxikus hatásának felmérésére.

Absztrakt

Az emberi populáció rohamos növekedése a városiasodás folyamatának fokozódását, valamint a természetes élőhelyek feldarabolódását és degradációját, ezáltal pedig a biodiverzitás csökkenését eredményezi. A városi élőhelyekre az emberi tevékenységekből származó genotoxikus hatású szennyező anyagok magas koncentrációja jellemző. Ezen genotoxikus vegyületek olyan szennyező anyagok, melyek az élő szervezetek genetikai anyagát károsítják. A folyamat során kialakuló deformált sejtmagok és mikronukleuszok fontos biomarkerek a genotoxikus anyagok hatásainak kimutatásában és jól alkalmazhatók különböző szennyező anyagok vagy környezeti tényezők DNS károsító hatásának felmérésére.

Kutatásunk során, a Balaton partján élő kockás sikló (*Natrix tessellata*) populációkban mikronukleusz teszt segítségével vizsgáltuk a siklókat érő genotoxikus hatás mértékét. Célunk az volt, hogy kiderítsük, hogy egy intenzív városiasodással és emberi tevékenységgel jellemezhető élőhelyen mely tájhasználati, lokális és lineáris struktúrákkal kapcsolatos környezeti változók befolyásolhatják az egyedeket érő genotoxikus hatás érvényesülésének mértékét.

Vizsgálatunk során, 25 mintavételi helyszínen 3-3 egyedtől vettünk vérmintát. A genotoxikus hatás becsléséhez minden egyed esetében meghatároztuk az 1000 vörösvérsejtben előforduló normális sejtmagot, deformált sejtmagot és mikronukleuszt tartalmazó sejtek arányát. A mintavételi helyeket tájhasználati szinten a települések belterületével, illetve a városi területek, utak, valamint vízi növényzettel borított területek méretével, míg lokális szinten a vegetáció borítottságával, a partot borító mesterséges kövezés területével, illetve a kikötők nagyságával jellemeztük. A lineáris struktúrák hatását az élőhelyhez legközelebbi út, a főút, valamint a vasúttól való távolsággal becsültük meg.

Predikciónkkal ellentétben, tájhasználati skálán a vízi növényzet borítottságának mérete pozitív, míg a városi területek mérete marginálisan szignifikáns, negatív összefüggést mutatott a deformált sejtmagok számával. Emellett tájhasználati skálán a vízi növényzet borítottság mérete, illetve lokális szinten a vegetáció borítottság is pozitív összefüggésbe hozható a vérsejtekben megtalálható mikronukleuszok számával. Feltételezéseink szerint a vízi növényzet képes kiszűrni és magában felhalmozni a tóba bemosódó szennyező anyagokat. Ebből adódóan a több nádassal borított területen élő siklóknál a táplálékláncon keresztül nagyobb mértékben akkumulálódnak a genotoxikus hatású vegyületek.

Összességében elmondható, hogy a fokozott emberi tevékenységből eredő, genotoxikus hatású szennyező anyagok a kockás siklók szervezetében felhalmozódnak, melyek így megfelelő bioindikátor fajként szolgálhatnak a természetes élőhelyeket érő genotoxikus hatású szennyező anyagok jelzésére.

Abstract

The rapid growth of the human population causes the acceleration of the urbanisation process, as well as the fragmentation and degradation of natural habitats, thereby resulting in biodiversity loss. The urban habitats are characterised by high concentrations of genotoxic pollutants originating from human activity. These genotoxic agents are pollutants that damage the genetic material of living organisms. The deformed nuclei and micronuclei formed during the process are important biomarkers for detecting the effects of genotoxic substances and can be utilized to assess the DNA-damaging effect of various pollutants or environmental factors.

In this study, we used the micronucleus assay to assess the effect of genotoxic agents on the dice snake (*Natrix tessellata*) populations inhabiting the lakeside of Lake Balaton. Our aim was to determine which landscape, local and linear structure related environmental variables influence the amount of genotoxic effects affecting the snakes in a habitat characterised by intensive urbanisation and human activity.

During our survey we collected blood samples from 3 snakes at each of the 25 study sites. In order to estimate the genotoxic effect, we determined the ratio of cells containing normal nucleus, deformed nucleus and micronucleus in 1000 cells per individual. We characterised the study sites on landscape level by the inner area of settlements and the size of urban areas, roads and aquatic vegetation cover, while on local level by the vegetation cover, area of artificial paving of the lakeside and the size of harbours. We estimated the effect of linear structures with the habitats' distance from the nearest road, mainroad and railway track.

Contrary to our prediction, we found that on landscape level the size of aquatic vegetation cover had a positive, while the size of urban areas had a marginally significant, negative effect on the number of abnormal nuclei found in the blood samples. In addition, on landscape level the size of aquatic vegetation cover and on local level, the ratio of vegetation cover positively affected the number of micronuclei in dice snakes. According to our assumptions, aquatic vegetation is capable of removing and accumulating the pollutants from natural waters. Consequently, snakes inhabiting areas with larger reed covers will accumulate a higher concentration of genotoxic agents through the food chain.

In conclusion, the genotoxic pollutants resulting from increased human activity accumulate in dice snakes, which can thus serve as suitable bioindicator species to signal the presence of genotoxic agents polluting natural habitats.

Irodalomjegyzék

1. Hooke RL, Martín Duque JF, De Pedraza Gilsanz J (2012) Land transformation by humans: A review
2. Chen M, Zhang H, Liu W, Zhang W (2014) The Global Pattern of Urbanization and Economic Growth: Evidence from the Last Three Decades. PLOS ONE 9:e103799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103799>
3. Hulley ME (2012) 5 - The urban heat island effect: causes and potential solutions. In: Zeman F (ed) Metropolitan Sustainability. Woodhead Publishing, pp 79–98
4. United Nations, D.o.E.a.S.A., Population Division, 2019. World Urbanization Prospects: The 2018 Revision (ST/ESA/SER.A/420). United Nations, New York.
5. Andrews A (2014) Fragmentation of Habitat by Roads and Utility Corridors: A Review. Australian Zoologist 26:130–141. <https://doi.org/10.7882/AZ.1990.005>
6. Hulbert AC, Hall JM, Mitchell TS, Warner DA (2020) Use of human-made structures facilitates persistence of a non-native ectotherm. Biol Invasions 22:2017–2031. <https://doi.org/10.1007/s10530-020-02236-2>
7. Sánchez-Bayo F Ecological Impacts of Toxic Chemicals
8. Chopra AK, Sharma MK, Chamoli S (2011) Bioaccumulation of organochlorine pesticides in aquatic system—an overview. Environ Monit Assess 173:905–916. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1433-4>
9. Lawal AT (2017) Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. Cogent Environmental Science 3:1339841. <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1339841>
10. Ali H, Fayed M, Lazim I (2022) Use of aquatic plants in removing pollutants and treating the wastewater: A review. Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences 10:61–70. <https://doi.org/10.22194/JGIAS/10.985>
11. D’Adamo R, Pelosi S, Trotta P, Sansone G (1997) Bioaccumulation and biomagnification of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic organisms. Marine Chemistry 56:45–49. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(96\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(96)00042-4)
12. Samanta S, Dey P (2012) Micronucleus and its applications. Diagnostic Cytopathology 40:84–90. <https://doi.org/10.1002/dc.21592>
13. Benvindo-Souza M, Santos Oliveira EA, Assis RA, et al (2020) Micronucleus test in tadpole erythrocytes: Trends in studies and new paths. Chemosphere 240:124910. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124910>
14. Udroi I (2008) The micronucleus test for aquatic toxicology. pp 145–160
15. Udroi I (2006) The micronucleus test in piscine erythrocytes. Aquatic Toxicology 79:201–204. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.06.013>
16. Udroi I, Sgura A, Vignoli L, et al (2015) Micronucleus test on *riturus carnifex* as a tool for environmental biomonitoring. Environmental and Molecular Mutagenesis 56:412–417. <https://doi.org/10.1002/em.21914>
17. Simbula G, Moltedo G, Catalano B, et al (2021) Biological responses in pesticide exposed lizards (*Podarcis siculus*). Ecotoxicology 30:1017–1028. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02440-3>
18. Ceyca-Contreras JP, Cortés-Gutiérrez EI, García-Salas JA, et al (2020) Evaluation of the genotoxic effect of heavy metals in pigeons from urban and rural habitat in Monterrey, Mexico, using the chromatin dispersion assay. Biomarkers 25:670–676. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2020.1825811>
19. Doherty TS, Balouch S, Bell K, et al (2020) Reptile responses to anthropogenic habitat modification: A global meta-analysis. Global Ecology and Biogeography 29:1265–1279. <https://doi.org/10.1111/geb.13091>

20. Inman RD, Esque TC, Nussear KE (2023) Dispersal limitations increase vulnerability under climate change for reptiles and amphibians in the southwestern United States. *The Journal of Wildlife Management* 87:e22317. <https://doi.org/10.1002/jwmg.22317>
21. Karádi-Kovács K, Boda P, Csabai Z, et al (2023) Negligible native and significant alien colonization of artificial shoreline by macroinvertebrates in a large shallow lake (Lake Balaton, Hungary). *Hydrobiologia* 850:1837–1848. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05186-7>
22. Farkas A (2002) A Balaton antropogén szennyezettségének jellemzése bioindikátorok alkalmazásával. PhD Thesis, PhD értekezés, Veszprémi Egyetem
23. Molnar E, Maasz G, Pirger Z (2021) Environmental risk assessment of pharmaceuticals at a seasonal holiday destination in the largest freshwater shallow lake in Central Europe. *Environ Sci Pollut Res* 28:59233–59243. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09747-4>
24. Németh Z, Svigruha R, Ács A, et al (2023) Developmental, Behavioral, and Biochemical Effects of Chronic Sublethal Exposure to Organic UV-Filter Compounds on the Water Flea, *Daphnia magna*
25. Bodnár E, Hlavay J, Abonyi J (2004) Distribution of Priority Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediment of Lake Balaton, Hungary. *Polycyclic Aromatic Compounds* 24:791–803. <https://doi.org/10.1080/10406630490472491>
26. Mészáros B, Bürgés J, Tamás M, et al (2024) Urban oasis? Abundant dice snake (*Natrix tessellata*) populations along artificial lakeside habitats in urban landscapes. *Landsc Ecol* 39:124. <https://doi.org/10.1007/s10980-024-01917-w>
27. Mészáros B, Bürgés J, Tamás M, et al (2023) Effects of the urban environment on the developmental stability, size and body condition of dice snakes (*Natrix tessellata*) living in artificial lakeside habitats. *Ecological Indicators* 156:111117. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.111117>
28. Mebert K Sexual Dimorphism in the Dice Snake (*Natrix tessellata*) from the Central Alps
29. (2016) Kockás sikló. In: Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület. <https://mme.hu/keteltuek-es-hullokkockas-siklo>. Accessed 12 Oct 2024
30. Neumann C, Mebert K (2011) Migration Behavior of Endangered Dice Snakes (*Natrix tessellata*) at the River Nahe, Germany. *Mertensiella* 18:39–48
31. Velenský M, Velenský P, Mebert K (2011) Ecology and ethology of dice snakes (*Natrix tessellata*) in the city district Troja, Prague. *Mertensiella* 18:157–176
32. Agrárminisztérium (2019) Magyarország Ökoszisztéma alaptérképe
33. Frixione MG, D’Amico V, Adami MA, Bertellotti M (2022) Urbanity as a source of genotoxicity in the synanthropic Kelp Gull (*Larus dominicanus*). *Science of The Total Environment* 850:157958. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157958>
34. Yeo I, Johnson RA (2000) A new family of power transformations to improve normality or symmetry. *Biometrika* 87:954–959. <https://doi.org/10.1093/biomet/87.4.954>
35. Cavanaugh JE, Neath AA (2019) The Akaike information criterion: Background, derivation, properties, application, interpretation, and refinements. *WIREs Computational Statistics* 11:e1460. <https://doi.org/10.1002/wics.1460>
36. Dormann CF, Elith J, Bacher S, et al (2013) Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography* 36:27–46. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x>
37. Breusch TS, Pagan AR (1979) A Simple Test for Heteroscedasticity and Random Coefficient Variation. *Econometrica* 47:1287–1294. <https://doi.org/10.2307/1911963>

38. R Core Team, 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
39. Zlinszky A Mapping and conservation of the reed wetlands on Lake Balaton
40. Zhang C, Feng Y, Liu Y, et al (2017) Uptake and translocation of organic pollutants in plants: A review. *Journal of Integrative Agriculture* 16:1659–1668. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61590-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61590-3)
41. Hejna M, Moscatelli A, Stroppa N, et al (2020) Bioaccumulation of heavy metals from wastewater through a *Typha latifolia* and *Thelypteris palustris* phytoremediation system. *Chemosphere* 241:125018. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125018>
42. Prica M, Andrejić G, Šinžar-Sekulić J, et al (2019) Bioaccumulation of heavy metals in common reed (*Phragmites australis*) growing spontaneously on highly contaminated mine tailing ponds in Serbia and potential use of this species in phytoremediation. *Botanica Serbica* 43:85–95
43. Nędzarek A, Rybczyk A, Bonisławska M, et al (2021) Bioaccumulation of metals in tissues of *Rutilus rutilus* and *Perca fluviatilis* from lakes with poor ecological status – human health risk assessment. *The European Zoological Journal* 88:1084–1095. <https://doi.org/10.1080/24750263.2021.1988160>
44. Akinsanya B, Adebuseye SA, Alinson T, Ukwa UD (2018) Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons, histopathological alterations and parasito-fauna in benthic-pelagic host from Snake Island, Lagos, Nigeria. *The Journal of Basic and Applied Zoology* 79:40. <https://doi.org/10.1186/s41936-018-0046-2>
45. Ionescu P, Radu VM, Deak G, et al (2019) Bioaccumulation of potentially toxic elements in fish species from aquatic environments located in crowded areas of southern Romania. *Technium: Romanian Journal of Applied Sciences and Technology* 1:53–58. <https://doi.org/10.47577/technium.v1i.19>
46. Nędzarek A, Czerniejewski P (2024) Assessment of heavy metal concentrations and bioaccumulation in the invasive round goby (*Neogobius melanostomus*) and associated risks to human health. *The European Zoological Journal* 91:440–456. <https://doi.org/10.1080/24750263.2024.2354696>
47. Weiperth A, Potyó I, Puky M (2014) Diet Composition of the Dice Snake (*Natrix Tessellata* Laurenti, 1768) in the Danube River Catchment Area. *Acta Zoologica Bulgarica Supplement*:51–56
48. Mote S, Kumar R, Naik BG, Ingole BS (2015) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and n-Alkanes in Beaked Sea Snake *Enhydrina schistosa* (Daudin, 1803) from the Mandovi Estuary, Goa. *Bull Environ Contam Toxicol* 94:171–177. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1439-7>
49. Huber M, Welker A, Helmreich B (2016) Critical review of heavy metal pollution of traffic area runoff: Occurrence, influencing factors, and partitioning. *Science of The Total Environment* 541:895–919. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.033>

Saját munka

Kutatásunk során saját munkám a vérkenetek festése és a sejtek leszámolása, az adatok bevitel és adattáblázatba rendezése, a statisztikai elemzés kódjának megírása és lefuttatása, valamint az eredmények összegzése és értelmezése volt. Emellett egy mintavételi helyszínen a terepi mintavétel minden lépésével megismerkedtem, vagyis részt vettem az állatok befogásában, vérvételezésében és a vérkenetek elkészítésében.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Mészáros Boglárkának, a rengeteg segítségért, valamint a munkám során, illetve dolgozatom elkészítésében nyújtott támogatásáért. Köszönöm továbbá belső konzulensemnek, Dr. Szűts Tamásnak, hogy tanácsaival és támogatásával segítette munkámat.

Egyéb nyilatkozatok

Kutatásunk során az összes állatokon végzett eljárás megfelelt az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács előírásainak (engedélyszám: VE/21/00184-9/2022) és a Magyar Természetvédelmi Jogszabályoknak (engedélyszám: VE/30/00658-9/2022).