



Lisztbogár egyedek (*Tenebrio molitor* L.) elemösszetételének változása az egyedfejlődés különböző stádiumaiban

Készítette: Arany József
II. kémia-biológia BSc

Témavezető: dr. Simon Edina
egyetemi adjunktus

Tartalom

1. Bevezetés	3
2. Anyag és módszer.....	5
2.1. Lisztbogarak (<i>Tenebrio molitor</i> L.) jellemzése	5
2.2. Lisztbogár tenyésztés	6
2.4. Elemanalízis.....	7
3. Eredmények	9
3.1 Kanonikus diszkriminancia analízis	9
3.2. Varianciaanalízis	10
4. Diskusszió	13
Köszönetnyilvánítás	16
Felhasznált irodalom	17

1. Bevezetés

A szárazföldi gerincteleneket sokféleségük, valamint nagy egyedszámban való megjelenésük miatt széles körben alkalmazzák bioindikátor szervezetekként (Zödl and Wittmann, 2003; Lindqvist and Block, 1997). 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 kapcsolatuk következtében akkumulálhatják a környezetükben fellelhető toxikus szerves illetve szervetlen komponenseket (Nakamura et al., 2005).

A lisztbogarak rövid életsiklusát és könnyű begyűjthetőségét tekintve jól alkalmazhatók bioindikátor szervezetként a környezetszennyezések vizsgálatára (Zödl and Wittmann, 2003). Számos laboratóriumi vizsgálatban alkalmazták indikátor szervezetként a lisztbogarakat (Fraenkel, 1958; Lindqvist and Block, 1997; Pedersen, 2006, 2008; Castilla et al., 2010).

Gazda - parazita kapcsolatot elemeztek *Tenebrio molitor* és *Hymenolepis diminuta* között, mely vizsgálatban a fertőzött és nem fertőzött (kontroll) egyedek viselkedését tanulmányozták. (Sheiman et al., 2006). Hasonló kísérletet végeztek, amikor is gyenge elektromágneses sugárzás (36 GHz, 100 MicroW/cm²) hatását tanulmányozták *Tenebrio molitor* imágó és lárvá stádiumok tanulási és memória képességeikre nézve (Sheiman and Shkutin, 2003). Továbbá olyan kutatásokat is végeztek, amelyek elősegíthetik olyan táplálék-kiegészítők gyártását lisztbogarak számára, melyek javítják ezeknek a rovarok túlélési esélyeit. Ugyanis megállapították, hogy ezek a bogarak eltérően más rovaroktól, képesek a vedlések számát, valamint a lárvastádiumok hosszát időben megváltoztatni. Ezáltal pontosabb ismereteket adhatnak egy hatékonyabb tenyésztési technika kifejlesztéséhez. A kísérlet során különböző étrend-kiegészítőkkel ellátott vízmentes burgonyával, illetve száraz burgonyából és

száraz tojásfehérjéből álló keverékkel táplálták a lisztbogarakat, melyek eredményeként a lárvák stádiumonként, így összességében a három lárvá stádium kifejlődése kevesebb időt vett igénybe.

A lisztbogár egyedek egyes egyedfejlődési stádiumaiban bekövetkezett elemösszetételbeli változások kevésbé kutatottak. Castilla et al. (2010) a nitrát és herbicidek hatását vizsgálta a lisztbogár egyedek növekedésére. 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 lárvá stádiumban van hatással (Fraenkel, 1958).

Kísérleteinkhez a *Tenebrio molitor*t választottuk, mivel lárvá és a kifejlett egyedek is könnyen elérhetőek és a reprodukciójuk gyors és egyszerű, könnyen lehet velük dolgozni laboratóriumi körülmények között, illetve valamennyi fejlődési stádium jól elkülöníthető egymástól. Vizsgálatunkban az elemösszetételében bekövetkező változásokat tanulmányoztuk az egyedfejlődés különböző stádiumaiban. Annak a megállapítása volt a célunk, hogy mely elemek milyen stádiumokban játszanak fontos szerepet.

2. Anyag és módszer

2.1. Lisztbogarak (*Tenebrio molitor* L.) jellemzése

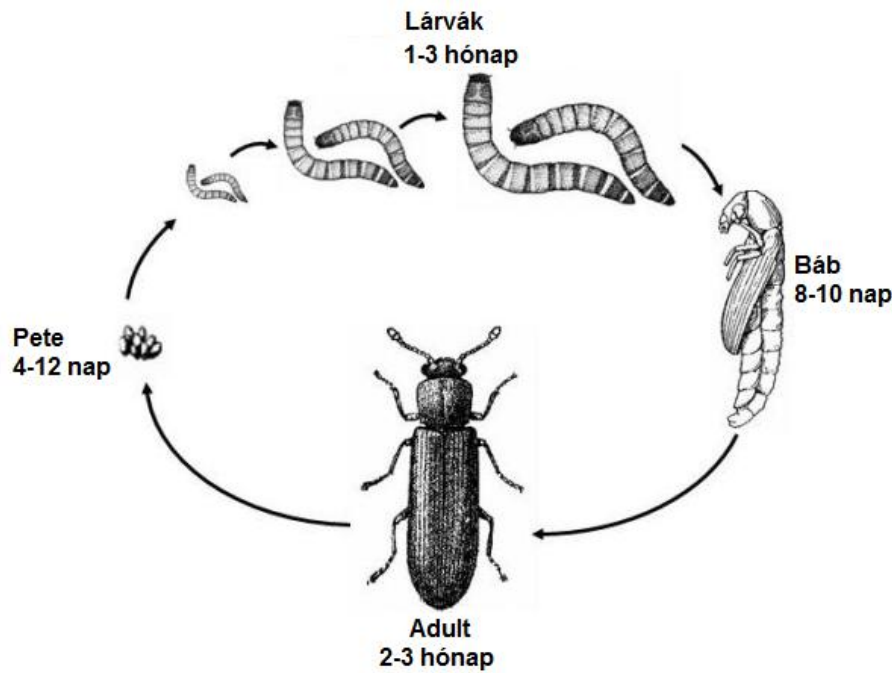
A gyászbogarak (Tenebrionidae) neve onnan származik, hogy túlnyomó többségük fekete vagy sötétbarna színű. A családba tartozó lisztbogarak a raktározott élelmiszereket, lisztet, gabonafélét károsítják (McGavin, 2000). A lisztbogár (*Tenebrio molitor*) 2 cm hosszú, fényes gesztenyebarna, vagy fekete (1. ábra). Nem ritka a természetben, például száraz fák odvaiban vagy madárfészkekben, de házakban, raktárakban való megjelenése sokkal ismertebb kártétele miatt. Kozmopolita, az ember behurcolta minden földrészre. Főleg éjjeli aktivitású, árnyékkedvelő. Állatkereskedésekben lárvája (lisztukac) könnyen beszerezhető (Reichholf-Riehm, 1984).



1. ábra. Adult lisztbogár egyed

(Forrás: <http://www.pbase.com/image/32057744>)

A lisztbogarak teljes metamorfózison mennek át, amely négy szakaszból áll: tojás, lárv, báb és adult vagyis kifejlett egyed (2. ábra). A nőtény bogarak 300-400 tojást raknak, amelyből lárvák fejlődnek 5 - 12 napon belül. A lárv időszak 22-100 nap között változik, míg a báb idő körülbelül 8 nap (Henson and Hayward, 2005).



2. ábra. A lisztbogár egyedfejlődési stádiumai

(Forrás: <http://www.sugarglider.com/gliderpedia/index.asp?MealWorm>)

2.2. Lisztbogár tenyésztés

Vizsgálatainkat megelőzően genetikailag hasonló lisztbogár populációt tenyésztettünk. Ebből a populációból véletlenszerűen 60 első stádiumú lárvát választottunk ki, melyeket műanyag dobozban neveltünk tovább. Az egyedfejlődés stádiumait 3 különböző műanyag dobozban tanulmányoztuk, azaz háromszoros ismétléssel dolgoztunk. Minden dobozt azonos környezeti feltételek mellett tartottunk. Mivel a kannibalizmus szintje magas (25-35%) a lisztbogár populációban, a bábokat kis műanyag dobozban tároltuk (Sonleitner and Guthrie, 1991). Az átlagos hőmérséklet 27°C és a páratartalom 80% volt. Desztillált vizet vízpermetet alkalmaztunk 2 naponta, a megfelelő páratartalom biztosítása érdekében.

A lárvák és a kifejlett bogarak azonos típusú és mennyiségű táplálékkal voltak etetve kétszer egy héten. A tenyésztet számára a táplálékot burgonya porból állítottuk elő. Minden

esetben 5,00 g burgonyaport mértünk be kis műanyag dobozba és összekevertük 20 ml desztillált vízzel.

2.3.Minta feldolgozás

A három lárvá stádiumból, a bábokból és kifejlett egyedekből 10 egyedet véletlenszerűen választottunk ki az elemzéshez. A feldolgozásig a mintákat fagyasztoóban - 15°C-on tároltuk. A mintákat egyenként műanyag szitára helyeztük és Millipore Milli-Q rendszerből vett 100 ml kettős ionmentes vízzel öblítettük át. A lárvák első, második és harmadik stádiumú mintáknál az egyedenkénti kis tömeg miatt átlag mintával dolgoztunk. A mintákat 25 ml-es főzőpoharakba tettük. A bábok és a bogarak nedves testtömegét azonnal lemértük. A mintákat egy éjszakán át 105°C-on szárítottuk majd a bábok és bogarak tömegét visszamértük a száraz tömegük meghatározása céljából. A lárvák száraz tömegét SARTORIUS LE 26P mikro-analitikai mérleggel mértük. Ezután a mintákat a főzőpoharakban 2 ml 65% (m/m)-os salétromsavval (Scharlau) roncsoltunk. A lárvák második és harmadik stádiumú egyedeknél 0,5 ml 30% (m/m)-os hidrogén-peroxidot is alkalmaztunk. A roncsolás 80°C-on 4 órán keresztül történt (Simon et al., 2010, 2012). A roncsolt mintákat 1% (m/m)-os salétromsav hozzáadásával 5 ml-re hígítottuk az első és második stádiumú lárvák esetében, míg 10 ml-re a harmadik lárvá stádium, bábok és bogarak esetében.

2.4. Elemanalízis

Az elem analízist CETAC 45 000 AT + ultrahangos porlasztóval ellátott ICP-OES IRIS Intrepid II XSP készülékkel végeztük. Hét pontos kalibrációt végeztünk (0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 és 1,0 mg l⁻¹ több-elemes kalibráló oldattal (Merck ICP többelem

standardoldat IV). A megfelelő elemek analízisét két illetve három atomos / ionos vonallal végeztük. Alkáli-fémek (például Li, Na és K) esetében egyvonalas analízist használtunk. A kiválasztott színek-vonalak esetében spektrális zavarást nem tapasztaltunk. A kimutatási határértékek (LOQ) mg /l-ben vannak megadva: Ba: 0,006; Ca: 0,008; Cd: 0,001; Co: 0,004; Cr: 0,002; Cu: 0,003; K: 0,003; Li: 0,002; Mg: 0,001; Mn: 0,001; Na: 0,002; Ni: 0,004; Pb: 0,013; Sr: 0,002 és Zn: 0,003 (Braun et al., 2009).

2.5. Statisztikai analízis

A varianciák homogenitását Levene próbával ellenőriztük. A különböző egyedfejlődési stádiumok elemösszetételét kanonikus diszkriminancia analízissel (CDA) és GLM ANOVA alkalmazásával vizsgáltuk. Azokban az esetekben, ahol szignifikáns különbséget tapasztaltunk Tukey összehasonlító tesztet végeztünk.

3. Eredmények

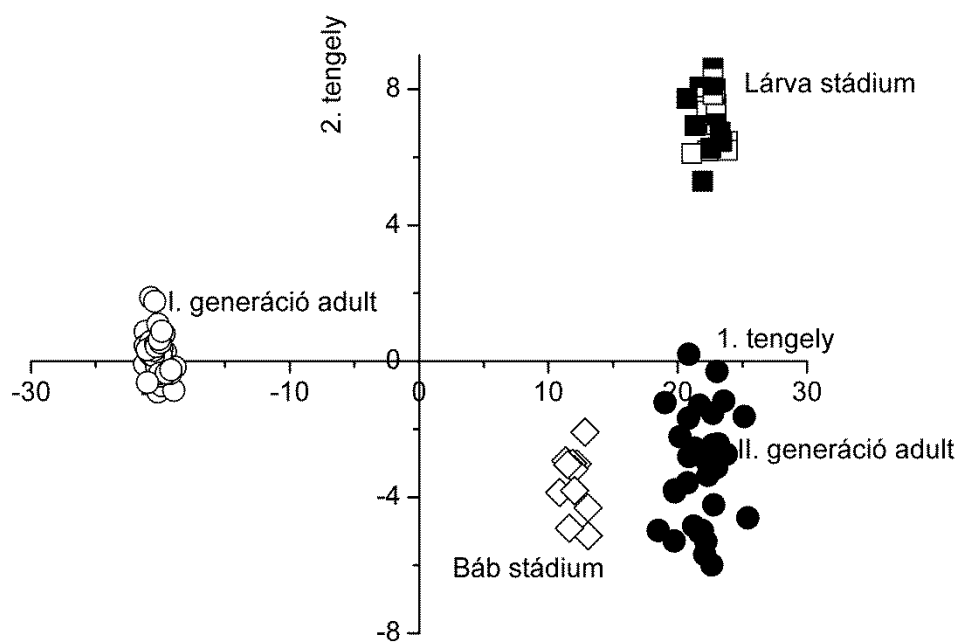
3.1 Kanonikus diszkriminancia analízis

Az egyes fejlődési stádiumok elemösszetételük alapján teljes mértékben, 99,2%-ban elkülönülnek egymástól kanonikus diszkriminancia analízis alkalmazásával (3. ábra). A különböző fejlődési stádiumok az első 4 diszkriminancia csoport alapján szignifikánsan különböznek egymástól ($p < 0,001$). A kanonikus korreláció, a kumulatív % és a varianciák %-os értéke az első 3 diszkriminancia csoport alapján mutatta a legnagyobb értékeket (1. táblázat).

1. táblázat. Kanonikus diszkriminancia analízis eredményei.

Csoportok	Saját- érték	Variancia %	Kumulatív %	Kanonikus korreláció	df	p érték
1	439,58	95,54	95,5	0,999	55	<0,001
2	11,74	2,55	98,1	0,960	40	<0,001
3	7,84	1,70	99,8	0,942	27	<0,001
4	0,86	0,19	99,9	0,680	16	<0,001
5	0,06	0,01	100,0	0,245	7	0,448

A kálium, a nátrium és a kalcium koncentráció pozitívan korrelált (K: $r = 0,754$; Na: $r = 0,510$; Ca: $r = 0,268$) az első diszkriminancia csoporttal, míg a réz ($r = -0,450$) negatívan korrelált a második diszkriminancia csoporttal. 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 tapasztaltunk a harmadik és negyedik diszkriminancia csoporttal. A kén ($r = 0,630$) és foszfor ($r = 0,616$) koncentrációk az ötödik diszkriminancia csoporttal korreláltak pozitívan.



3. ábra. Lisztbogarak különböző egyedfejlődési stádiumai az egyes stádiumokban mért elemösszetétel (mg/kg) alapján.

3.2. Varianciaanalízis

Szignifikáns különbséget tapasztaltunk valamennyi elem esetében az egyes egyedfejlődési stádiumok között varianciaanalízist alkalmazva ($p < 0,001$) (2. táblázat). Tukey összehasonlító teszt alapján megállapíthatjuk, hogy az 1. lárva stádiumtól a 3. stádium kifejlődéséig szignifikánsan csökkent a vas, a mangán, a stroncium és a réz koncentrációja ($p < 0,05$). A többi elem (kalcium, réz, kálium, magnézium, nátrium, foszfor és cink) esetében szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk az egyes lárva stádiumok között ($p > 0,05$). Összehasonlítva a lárva stádiumokat a báb stádiummal szignifikánsan csökkent a kálium, a nátrium, a kén és a stroncium koncentrációja a báb stádium kialakulásáig ($p < 0,05$). A kalcium és a mangán esetében szignifikánsan magasabb koncentrációt tapasztaltunk az 1. és 2. lárva stádiumban, mint a bábállapotban ($p < 0,05$) (3. táblázat).

2. táblázat. GLM ANOVA összefoglaló eredményei.

Elemek			df	F	p érték
Ca	stádium	Hypothesis	5	1005.492	<0.001
		Error	5		
Cu	stádium	Hypothesis	5	333.0181	<0.001
		Error	5		
Fe	stádium	Hypothesis	5	304.3315	<0.001
		Error	5		
K	stádium	Hypothesis	5	3320.622	<0.001
		Error	5		
Mg	stádium	Hypothesis	5	550.5617	<0.001
		Error	5		
Mn	stádium	Hypothesis	5	168.1551	<0.001
		Error	5		
Na	stádium	Hypothesis	5	4727.923	<0.001
		Error	5		
P	stádium	Hypothesis	5	1423.905	<0.001
		Error	5		
S	stádium	Hypothesis	5	2335.179	<0.001
		Error	5		
Sr	stádium	Hypothesis	5	587.5947	<0.001
		Error	5		
Zn	stádium	Hypothesis	5	1216.785	<0.001
		Error	5		

A réz esetében az 1. lárva stádiumban mért koncentráció megegyezett a bábállapotban mért koncentrációval ($p > 0,05$), míg a vas és cink koncentráció szignifikánsan magasabb volt az 1. lárva stádiumban, mint a bábállapotban ($p < 0,05$). Valamennyi elem esetében szignifikánsan különböző koncentrációkat tapasztaltunk valamennyi lárva stádiumban, mint az I. generációjú adult egyedekben ($p > 0,05$).

3. táblázat. Lisztbogarak egyedfejlődési stádiumaiban mért elem koncentrációk (átlag $\pm$ SE).

Elemek	1. lárva stádium	2. lárva stádium	3. lárva stádium	Báb	I. generáció adult	II. generáció adult
Ca, mg/kg	736 $\pm$ 193	583 $\pm$ 52	449 $\pm$ 88	348 $\pm$ 72	799 $\pm$ 129	524 $\pm$ 198
Cu, mg/kg	14,4 $\pm$ 4,1	10,9 $\pm$ 1,8	10,6 $\pm$ 2,8	15,2 $\pm$ 9,8	19,5 $\pm$ 11,7	37,3 $\pm$ 15,4
Fe, mg/kg	250 $\pm$ 209	98 $\pm$ 29	46 $\pm$ 10	108 $\pm$ 96	115 $\pm$ 95	106 $\pm$ 46
K, g/kg	14,6 $\pm$ 2,2	14,5 $\pm$ 1,2	12,5 $\pm$ 2,6	3,5 $\pm$ 0,2	9,0 $\pm$ 1,6	9,9 $\pm$ 2,9
Mg, g/kg	1,9 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,6	2,2 $\pm$ 1,0	1,7 $\pm$ 0,7	1,6 $\pm$ 0,8
Mn, mg/kg	18,9 $\pm$ 5,9	14,7 $\pm$ 3,1	10,3 $\pm$ 1,9	9,9 $\pm$ 2,9	11,9 $\pm$ 6,0	12,7 $\pm$ 2,4
Na, g/kg	2,1 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,4	2,7 $\pm$ 0,7
P, g/kg	65 $\pm$ 28	77 $\pm$ 35	62 $\pm$ 31	1,8 $\pm$ 0,2	6,0 $\pm$ 1,0	18,0 $\pm$ 9,9
S, g/kg	9,1 $\pm$ 6,4	6,3 $\pm$ 1,6	6,6 $\pm$ 3,0	1,0 $\pm$ 0,7	1,9 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 1,4
Sr, mg/kg	8,8 $\pm$ 2,4	7,1 $\pm$ 6,7	5,7 $\pm$ 4,9	1,4 $\pm$ 0,6	1,4 $\pm$ 0,5	4,1 $\pm$ 1,4
Zn, mg/kg	171 $\pm$ 57	115 $\pm$ 10	94 $\pm$ 26	92 $\pm$ 12	81 $\pm$ 9	90 $\pm$ 22

A bábállapotban mért elemek koncentrációja szignifikánsan különbözött mind az I., mind a II. generációjú egyedekben mért elemkoncentrációktól ($p > 0,001$), kivéve a vas és cink koncentrációját. A vas esetében szignifikánsan magasabb koncentrációt tapasztaltunk az I. generációjú adult egyedekben, mint a bábban, illetve a II. generációjú egyedekben ($p < 0,001$). Ezzel szemben a cink koncentráció a bábban és a II. generációjú egyedekben szignifikánsan magasabb volt, mint az I. generációjú egyedekben ($p < 0,001$).

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

4. Diskusszió

Vizsgálataink folyamán, a lisztbogarak egyedfejlődése során az egyes egyedstádiumokban bekövetkező elem összetételbeli változásokat tanulmányoztuk. Az egyedfejlődés során a következő, a szervezetben fontos szerepet betöltő elemeket vizsgáltuk: kalcium, réz, vas, kálium, magnézium, mangán nátrium, foszfor, kén, stroncium és cink.

A kalciumot nem csak a gerincesek vére tartalmazza nagy mennyiségben, hanem viszonylag magas koncentrációban a magnéziummal együtt számos rovar hemolimfájában felhalmozódik (Chapman, 1998). A nátrium esetében megállapítható, hogy a legtöbb fitofág (növényevő) rovarban alacsonyabb a koncentrációja. A teljes metamorfózisú rovaroknál viszont fajonként eltérő lehet a nátrium koncentráció. A nátrium és a kloridok jelentős hányadát jelentik az ozmotikus koncentrációnak, amely a „rovarvér” alaptípusa darwini szempontból, mivel hasonlít sok más ízeltlábúakéra, például előfordul Ephemeroptera-ban, Odonate-ban, Plecoptera-ban, Orthoptera-ban és Homoptera-ban. A legtöbb kifejlett rovar hemolimfájában magasabb a nátrium koncentráció, mint a lárvákéban, de ennek a fordítottja igaz a magnéziumra, kivéve Coleoptera-k esetében. A magnézium koncentrációt a lárvák hemolimfájában egyértelműen az étrend befolyásolja. (Chapman, 1998). *Carausius* egyedekben a magnézium szintén lényeges alkotóeleme az extracelluláris folyadéknak, esetleg képes helyettesíteni a nátriumot bizonyos mértékig. A szervetlen vegyületek: nátrium, kálium, kalcium, magnézium, kloridok és foszfátok esszenciálisak a sejtműködéshez, ezért lényeges alkotóelemei az összes rovar étrendjének (McFarlane, 1991). A kálium esetében nem figyelhetőek meg különbségek, de változások előfordulnak éhezés esetén, és sáskáknál a kálium-koncentráció jelentősen nőhet vedlés előtt. Ezek a változások befolyásolhatják a rovarok viselkedését, mivel a neuromuszkuláris csomópontok közvetlenül ki vannak téve a

hemolimfának és a kálium alacsony koncentrációja növeli a nyugalmi potenciált (Chapman, 1998). A cink bizonyos mértékben esszenciális elemnek tekinthető a rovar szervezetek számára. A vérben az egyik leggyakrabban előforduló elem a vas. A hemolimfában a vas két proteinhez kötött, a ferritinhez és a transferrinhez (Locke and Nichol, 1992). A vas központi eleme a citokrómnak és a hemnek, és az étkezés része kell legyen. A kutikula részei más fémek (cink, mangán) mellett szintén vasat tartalmazhatnak, ugyanakkor pókok esetében a csápárgókban is megtalálható (Chapman, 1998).

Kevés adat áll rendelkezésre a táplálékban található elemek hasznosításáról. Ernst (1992) kimutatta, hogy a zsizsiklárva a réz és a cink több mint 90%-át, a vasnak az 50%-át a kalciumnak, magnéziumnak és a káliumnak 20%-át hasznosítja a táplálékból. Eredményeinket összevetve mások munkáival magasabb cink és réz koncentrációt mértünk a lisztbogarak lárvá stádiumaiban, mint amelyeket légy és lepke lárvákban tapasztaltak (Lang, 1963; Zhuang, 2009). Nummeli et al. (2007) szitakötő lárvák elemösszetételét vizsgálva, alacsonyabb mangán koncentrációt tapasztalta a lárvákban, mint mi, illetve jóval nagyobb vas koncentrációval rendelkeztek a lárvák, melynek oka, az élőhelyük közelében létesített vas üzem.

A kémiai elemek koncentrációjának vizsgálata a rovarok egyedfejlődése során azonban kevésbé kutatott. Eredményeinkkel ellentétben Lindqvist és Block (1997) kutatásaik során megállapították, hogy a cink koncentrációjára a metamorfózis kevésbé volt hatással. Illetve korábbi vizsgálatok azt bizonyítják, hogy az adult és lárvastádiumok közötti elemösszetételbeli különbségek azonban meg vannak (Lindqvist, 1992). Ezt bizonyítják egyrészt saját eredményeink is, illetve korábbi vizsgálatok. Polydesmida fajokat vizsgálva szintén különbséget tapasztaltak a kalcium, magnézium, kálium, nátrium, cink és réz koncentrációban lárvá és adult egyedek között.

Össességében vizsgálataink azt mutatják, hogy a rovarok egyes egyedfejlődési stádiumaiban jelentős mértékben megváltozik az egyedek elemösszetétele.

Köszönetnyilvánítás

Tisztelettel köszönöm Dr. Simon Edina témavezetőmnek nagylelkű tanácsait és fáradhatatlan segítségét. Köszönöm továbbá Dr. Tóthmérész Béla tanszékvezetőnek, hogy a Debreceni Egyetem Ökológia Tanszéken folytatott munkámat támogatta. Köszönöm Baranyai Edina laboratóriumi munkámban való segítségét. Illetve szeretném köszönetemet kifejezni Dr. Braun Mihálynak az ICP mérésekben nyújtott elengedhetetlen segítségét. A munkát a TÁMOP 4.2.1./B-09/1/KONV-2010-0007, és TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024 pályázatok támogatták.

Felhasznált irodalom

- Braun, M., Simon, E., Fábán, 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.
- Brzóska, M. M., Moniuszko-Jakoniuk, J., 2001. Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 967-980.
- Chapman, R. F., 1998. *The Insects: Structure and Function*. Cambridge University Press.
- Ernst, W.H.O., 1992. Nutritional aspects in the development of *Bruchidius sahlbergi* (Coleoptera : Bruchidae) in seeds of *Acacia erioloba*. *Journal of Insect Physiology*, 38, 813-838.
- Farmer, J., Maddrell, S.H.P., Spring, J.H., 1981. Absorption of fluid by the midgut of *Rhodnius*. *Journal of Experimental Biology*, 94, 310-6.
- Krezel, A., Maret, W., 2007. Dual nanomolar and picomolar Zn (II) binding properties of metallothionein. *Journal of American Chemical Society*, 129, 10911–10921.
- Lindqvist, L., and Block, M., 1997. Influence of life history and sex on metal accumulation in two beetle species (Insecta: Coleoptera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 518-522.
- Locke, M.; Nichol, H., 1992. Iron economy in insects; transport, metabolism and storage. *Annual Review of Entomology*, 37, 195-215.
- McFarlane, J.E., 1991. Dietary sodium, potassium and calcium requirements of the house cricket, *Acheta domesticus* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100A, 217-220.
- McGavin, G. C., 2000. *Rovarok, pókok és más szárazföldi ízeltlábúak*. Budapest, Panemex Kft, Grafo Kft, ISBN 963 9090 441.

- Morales Ramos, J. A., Rojas, M. G., Shapiro Ilan, D.I., Tedders, W. L., 2009. Developmental plasticity in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae): Analysis of Instar Variation in Number and Development Time under Different Diets. *Journal of Entomological Science*, 45(2), 75-90.
- 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.
- Nehring, R.B., 1973. Heavy metal toxicity in two species of aquatic insects. M.S. Thesis, Colorado State University, Fort Collins, Colorado.
- Nehring, R.B., 1976. Aquatic insects as biological monitors of heavy metal pollution. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 15 (2), 147-154.
- Reichholf-Riehm, H., 1997. *Rovarak és pókszabásúak*, Budapest, Magyar Könyvklub
- Sheiman, I.M., Shkutin, M.F., Terenina, N.B., Gustafsson, M.K., 2006. A behavioral study of the beetle *Tenebrio molitor* infected with cysticercoids of the rat tapeworm *Hymenolepis diminuta*. *Naturwissenschaften*, 93, 305-8.
- Sheiman, I.M., Shkutin, M.F., 2003. Effect of weak electromagnetic radiation on learning in the grain beetle *Tenebrio monitor*. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*, Russian 53, 775-80.
- Sigel, A., Sigel, H., Sigel, R. K., 2009, *Metallothioneins and Related Chelators*, ISBN 978-1-84755-899-2.
- Simon, E., Braun, M., Tóthmérész, B., 2010. Non-destructive method of frog (*Rana esculenta* L.) skeleton elemental analysis used during environmental assessment. *Water, Air and Soil Pollution*, 209, 467-471.

Simon, E., Puky, M., Braun, M., Tóthmérész B., 2011. Assessment of the effects of urbanization on trace elements of toe bones. Environmental Monitoring and Assessment, 184, 5749-5754.

Sonleitner, F, J., Gutherie, J., 1991. Factors affecting oviposition rate in the flour beetle *Tribolium castaneum* and the origin of the population regulation mechanism. Researches on Population Ecology, 33, 1-11.

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.

<http://www.sugarglider.com/gliderpedia/index.asp?MealWorm>

<http://www.pbase.com/image/32057744>