

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Nehézfémekkel szennyezett talajok  
fitoremediációjának vizsgálata**

**Remediation of soil metal contamination  
with plants**

Tózsér Dávid

Témavezető:  
Dr. Kandrát-Simon Edina  
egyetemi docens



**DEBRECENI EGYETEM**

**Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola**

**Debrecen, 2018**



## **Bevezetés**

### Fémzennyezés és csökkentése

Az emberi tevékenységek nyomán fellépő környezet-szennyezés globálisan jelentkező, rendszerszemléletű megoldást igénylő kihívás. A környezeti elemek közül a talajokat érő szennyeződések közvetlen és közvetett módon számtalan, az ember környezetében élő szervezet létét befolyásolják (Panagos et al. 2013). A talajszennyezők közül a fémek feldúsulása rendkívül nagy kockázatot jelent, ugyanis a táplálékláncon keresztül az élő szervezetekbe jutnak és felhalmozódnak (Nica et al. 2012).

A fémzennyezés megszüntetésének és csökkentésének igénye számos talajtisztítási (remediációs) eljárás kifejlesztését eredményezte. Ezek között megkülönböztetünk hagyományos és alternatív módszereket (Pulford & Watson 2003). Utóbbi csoportba tartozik a fitoremediáció, azaz az adott közeg szennyezettségi szintjének növények általi csökkentése (Zhivotovsky et al. 2010). A módszercsoport több szennyező-specifikus eljárást tartalmaz, melyek közös előnye a hagyományos módszerekkel szemben a környezet csekélyebb mértékű bolygatása, tartós zöld borítás kialakítása, illetve a biomassa további hasznosításának lehetősége (Bissonnette et al. 2010).

A fitoremediáció egyik leggyakrabban alkalmazott típusa a növények általi fémfelvétel (akkumuláció) alapuló fitoextrakció (Wani et al. 2011). Az erre alkalmas növények vizsgálatát számos tanulmány tűzte ki célul (Pulford & Watson 2003, Bandiera et al. 2016). Ezen kutatások során megállapítást nyert, hogy egyes fás szárú (pl. fűz) fajok gyors növekedésüknek, nagy biomassa-hozamuknak és fémtoleranciájuknak, míg bizonyos lágyszárú (pl. libatop) fajok tömegességüknek és fémtoleranciájuknak köszönhetően fitoextrakció szempontjából jelentős potenciállal rendelkeznek (Dos Santos Utmazian & Wenzel 2007, Greger & Landberg 2015).

## Célkitűzések

A fűz fajok fitoextrakciós potenciáljának vizsgálata során szennyezett talajokon nevelt fűz fajok növényi szerveinek (gyökér, szár, ág és levél) Cd-, Pb- és Zn-akkumulációját elemeztük a nemzetközi szakirodalomban közölt eredmények alapján, metaanalízis segítségével. Tanulmányoztuk, hogy (1) a talaj kémhatása milyen hatással van az említett fémek talajbeli mobilitására és növényi akkumulációjára, (2) tapasztalható-e korreláció az egyes fémek akkumulációja között, illetve hogy (3) a fémek növényi szövetekben történő akkumulációjának mértéke hogyan változik az expozíció időtartamának függvényében.

További kutatásaink során kosárfonó fűz (*Salix viminalis* L.) egyedek fitoextrakciós potenciálját vizsgáltuk nehézfémekkel szennyezett talajokon. Feltételeztük, hogy (1) a közepes mértékű talajszennyezettségnek nincs negatív hatása a fűzek egészségi állapotára, illetve hogy (2) a talajban és a gyökérben, valamint a talajban és a levélben található elemkoncentrációk között, illetve a levél elemkoncentrációja és a fűzek egészségi állapota között korreláció van. Hipotézisünk volt továbbá, hogy (3) a levél a legsikeresebb elemakkumuláló növényi szerv, melyet a transzlokációs faktor magas (>1) értéke is tükröz.

Gyomfajok fitoextrakciós potenciáljának vizsgálata során szennyezett talajokon tenyésztő fehér libatop (*Chenopodium album* L.) és kaporlevelű ebszékfű (*Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip.) egyedek elemakkumulációját vizsgáltuk. Kutatási hipotézisünk szerint (1) a fehér libatop jó remediációs potenciállal rendelkezik, azaz bioakkumulációs, biokoncentrációs és transzlokációs faktor értékei egyaránt magasak. Vártuk továbbá, hogy (2) a kaporlevelű ebszékfű, a faj átfogó fitoremediációs célú vizsgálatának hiányában, a rokon fajok eredményeihez képest mérsékeltebb, de ugyancsak jó remediációs potenciállal rendelkezik.

## Anyag és módszer

A fűz fajok fémfelvételi képességének metaanalízissel történő vizsgálatához szükséges adatokat a Web of Science adatbázisából gyűjtöttük, az 1975 és 2016 közötti időintervallumban publikált kutatások eredményeiből. A vizsgálatba vonás feltétele volt, hogy az adott publikáció közölje bármely fűz faj egy vagy több növényi szervének fémkoncentrációját (Cd és/vagy Pb és/vagy Zn) szennyezett és szennyezetlen (kontrol) területről egyaránt, kiegészítve azok standard deviációjával vagy hibájával ( $\pm$  SD/SE) és mintanagyságával (N). A keresést a publikációk szövegére, ábráira és táblázataira, illetve további releváns adatok után kutatva azok irodalomjegyzékére is kiterjesztettük.

A vizsgálat során a szennyezett területen tenyésző fűzek szennyezetlen területen található (kontrol) egyedeihez viszonyított akkumulációját vizsgáltuk. Valamennyi szennyezetlen versus szennyezett összehasonlítás esetén a torzítatlan standardizált átlagos eltérés (Hedges-féle  $g$ ) hatásnagyságát számoltuk. A növényi szervek (gyökér, szár, ág és levél) közötti fémakkumuláció különbségeinek felderítése céljából csoportokon belüli metaanalízist alkalmaztunk. A metaanalízis során véletlenhatás-modell (*random effects model*) segítségével megvizsgáltuk a teljes hatást, illetve a moderátorok, azaz növényi szervek hatását (Borenstein et al. 2009). A tanulmányok hatás-méretbeli heterogenitásának leírására kiegészítő heterogenitási vizsgálatokat ( $Q$ ,  $T^2$ ,  $I^2$  és  $R^2$ ) végeztünk (Borenstein et al. 2009). Az ún. publikációs torzítás vizsgálatához *funnel plot*-okat készítettünk, illetve Egger-féle tesztet alkalmaztunk (Borenstein et al. 2009). Szignifikáns aszimmetria esetén a *trim and fill* módszert használtuk (Duval & Tweedie 2000). A metaanalíziseket, illetve heterogenitási- és publikációs torzítási vizsgálatokat az R programnyelv és programozási környezet 3.2.4. verziójában a MAd és metafor csomagokkal végeztük Windows környezetben (Viechtbauer 2010, Del Re & Hoyt 2014, R Core Team 2018). A fűz fajok növényi szerveiben történő fémakkumuláció időbeli változásának

vizsgálatához a standardizált átlagos eltérés (Hedges-féle  $g$ ) és az expozíció időtartama közötti összefüggést elemeztük. A fémek felvétele közötti interakciók vizsgálatához az R programban *lm* módszert használó lineáris modelleket alkalmaztuk.

A kosárfonó fűz és a gyomfajok vizsgálatát a Debrecen határában található Lovász-zugi tórendszer 26 ha-os területén végeztük. Az egykori kommunális szennyvíztelepítő terület hátramaradt iszapja fémekkel terhelt. A területen remediációs céllal környezetvédelmi felmérés, majd 2013-ban 5800 db kosárfonó fűz egyed telepítése történt. Kontrol területként a Debreceni Vízmű Zrt. Szennyvíztisztító Üzem talajszennyezéstől mentes részét jelöltük ki.

A vizsgálatainkhoz szükséges talajmintavételt 2015 szeptemberében végeztük. A Lovász-zugi tórendszer északi (mérsékelt szennyezett 1), középső (erősen szennyezett) és déli (mérsékelt szennyezett 2) részein egyaránt 9 fűráspontot jelöltünk ki, melyekből egyenként 8 db talajmintát vettünk 80 cm mélységig, 10 cm-ként, kézi talajfűró segítségével. A talajmintákat laboratóriumba szállításukig +4 °C-on műanyag tasakokban tároltuk.

A kosárfonó fűz egyedek növényzeti mintavételét 2015 októberében végeztük. Az általunk kijelölt talajmintavételi pontok mindegyikének közvetlen közeléből 2 db fűzet vizsgáltunk. Ennek során gyökérmintát, illetve 170–200 cm magasságból levélmintát gyűjtöttünk. A kontrol területen hasonló módszerekkel 5 db egyedet vizsgáltunk. A növényi mintákat laboratóriumba szállításukig +4 °C-on műanyag tasakokban tároltuk.

A kosárfonó fűz egyedek állapotfelmérését 2014 augusztusában és szeptemberében végeztük. A vizsgált terület északi részéről 500, középső részéről 250, míg déli részéről 200 db egyed kondícióját becsültük. A fűzek állapotértékelését Webster (1978) módszere szerint, hat fő faktor alapján végeztük: (i) törzs állapota, (ii) növekedési ütem, (iii) fa-struktúra, (iv) betegségek, (v) korona fejlettsége és (vi) várható élettartam. Webster (1978) útmutatásait követve az egyes faktorokhoz pontszámokat rendeltünk, s az egyedeket az alábbi kondíció-kategóriák valamelyikébe soroltuk:

kiváló (26–23), jó (22–19), elfogadható (18–14), rossz (13–10) és nagyon rossz (9–6).

A gyomfajok (fehér libatop és kaporlevelű ebszékfű) elemakkumulációs vizsgálatához a talajmintavételi pontok körül, azok 10 m sugarú körzetéből 5-5 db fehér libatop és kaporlevelű ebszékfű egyedet gyűjtöttünk, 2015 szeptemberében. A növényeket laboratóriumba szállításukig +4 °C-on papír tasakokban tároltuk.

A kosárfonó fűz egyedek és gyomfajok fitoextrakciós vizsgálatához gyűjtött talajminták nedvességtartalmát, vizes oldatuk kémhatását, szervesanyag-tartalmát és elemanalitikai összetételét határoztuk meg. A nedvességtartalom meghatározásához a bemért (5 g) mintákat 24 órára 105 °C-ra melegített szárítószekrénybe helyeztük, majd nedvességtartalmukat visszameréssel határoztuk meg. A talajminták vizes oldatainak kémhatását hordozható multiméter (Hach HQ 40d) segítségével mértük. A talajminták szervesanyag-tartalmának meghatározásához a bemért (0,2 g) mintákat 4 órán keresztül 550 °C-os kemencében (Nabertherm L5/C6, Germany) izzítottuk. A szervesanyag-tartalmat az izzítási veszteség alapján számoltuk. Az elemanalitikai vizsgálatok során a 105 °C-on kiszáritott talajmintákat achát mozsárral homogenizáltuk, majd azokból 0,2 g-ot főzőpohárba mértünk. A mintákat 4 ml 65 % (m/m) HNO<sub>3</sub> és 0,5 ml 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hozzáadásával, a vegyületek teljes elpárolgásáig, főzőlapon roncsoltuk. Ezt követően a mintákhoz 5 ml 3× ioncserélt vizet adtunk. Az így kapott talajoldatot a kinyerés maximalizálása érdekében ultraszonikus vízfürdőben rázattuk. A mintákat centrifugacsövekben 1 % (m/m) salétromsavval 10 ml-re egészítettük ki. A talajoldatokból mikrohullámú plazma atomemissziós spektrométer (Agilent MP-AES 4100) segítségével az alábbi elemek koncentrációját határoztuk meg: Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ba, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr és Zn.

A kosárfonó fűz fitoextrakciós vizsgálatának céljából gyűjtött gyökér- és levélmintákat a laboratóriumban csapvízzel alaposan lemostuk. Ezt követően a mintákat 24 órán keresztül szobahőmérsékleten, majd 48 órán keresztül 60 °C-on

szárítószekrényben szárítottuk. A gyökérminták homogenizálását szintén elvégeztük. Az egyedenkénti 20 db levelet achát mozsár segítségével homogenizáltuk. A mintákat (N=54) műanyag centrifugacsövekbe helyeztük. Az elemanalitikai vizsgálat során a mintákhoz 4 ml 65 % (m/m) HNO<sub>3</sub>-at és 0,5 ml 30 % (m/m) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ot adtunk. Az így kapott oldatokat lombikba töltöttük, majd azokat 3× ioncserélt víz hozzáadásával 25 ml-re egészítettük ki. Az oldatot műanyag centrifugacsövekbe töltöttük. A gyökér- és levélminták oldataiból mikrohullámú plazma atomemissziós spektrométer (Agilent MP-AES 4100) segítségével az alábbi elemek koncentrációját határoztuk meg: Al, Fe, Mn, Ba, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr és Zn.

A gyomfajok fitoextrakciós vizsgálatához gyűjtött egyedeket laboratóriumban csapvízzel alaposan lemostuk, majd a gyökér, szár és levél szerveket elkülönítettük. Az egyedenként és növényi szervenként gyűjtött mintákat 24 órán keresztül szobahőmérsékleten, majd 48 órán keresztül 60 °C-on szárítószekrényben szárítottuk. A mintákat achát mozsár segítségével homogenizáltuk. A gyomfajok esetében is a kosárfonó fűz egyedek mintáinak előkészítése során alkalmazott módszereket használtuk. A növényi szervek mintáinak oldataiból mikrohullámú plazma atomemissziós spektrométer (Agilent MP-AES 4100) segítségével az alábbi elemek koncentrációját határoztuk meg: Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ba, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr és Zn.

A gyomfajok (fehér libatop és kaporlevelű ebszékfű) fitoextrakciós potenciáljának vizsgálata során bioakkumulációs faktor (BAF) értékeket számítottunk. A kosárfonó fűz gyökereinek és leveleinek, illetve a gyomfajok gyökereinek, szárának és leveleinek fitoextrakciós potenciáljának vizsgálata során biokoncentrációs faktor (BCF) értékeket határoztunk meg. A kosárfonó fűz és a gyomfajok fitoextrakciós potenciáljának vizsgálata során transzlokációs faktor (TF) értékeket számítottunk. A kosárfonó fűz egyedek fitoextrakciós vizsgálata során kanonikus diszkriminancia-analízist (CDA), egyutas varianciaanalízist, Levene-tesztet és nem-parametrikus Kruskal–



Wallis-tesztet alkalmaztunk. A korrelációs elemzésekhez rangkorrelációs és Pearson-féle korrelációs vizsgálatokat végeztünk.

A gyomfajok fitoextrakciós vizsgálata során statisztikai elemzéseinket a növényi szervek és talajminták elemkoncentrációinak természetes alapú logaritmusával (ln) végeztük. A fajok, az egyes növényi szervek, illetve a vizsgált terület egyes részei közötti elemkoncentrációk összehasonlítására általános lineáris modellt (GLM) alkalmaztunk.

## **Eredmények**

### Fűz fajok fémakkumulációs potenciáljának metaanalízise

Az adatbázisban történő keresés nyomán a keresési feltételeknek 527 db publikáció felelt meg, melyek közül a vizsgálatba vonáshoz 8 db volt megfelelő. Ezekből összesen 194 db szennyezetlen-szennyezett összehasonlítás volt kinyerhető. A publikációkban vizsgált fajok fémakkumulációja hasonlóan bizonyult, így a fémfelvétel vizsgálatát a továbbiakban faj szintű bontás nélkül végeztük.

Az egyes fémek felvételét illetően azt tapasztaltuk, hogy a Cd, Pb és Zn koncentrációja a gyökér, szár, ág és levél esetében egyaránt szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) nagyobb volt a szennyezett területeken, mint a szennyezetlen területeken. A növényi szervek közötti eltéréseket vizsgálva szignifikáns eltéréseket a Pb és Zn esetében találtunk. A fűzök Pb-koncentrációja szignifikánsan nagyobb volt a gyökerekben és az ágakban, mint a szárban és a levelekben. A Zn akkumulációja szignifikánsan intenzívebb volt az ágakban, mint a levelekben. A fémfelvételt befolyásoló tényezők vizsgálatakor szignifikáns pozitív korrelációt tapasztaltunk a talajminták pH-értéke és a fűzök szárának Cd-koncentrációja között, azaz a savas pH kedvezett a szárban történő Cd-felhalmozódásnak. A fémek felvétele közti korrelációt elemezve szignifikáns összefüggést találtunk a Cd és Zn szárban történő akkumulációi között. A fémek időbeli felhalmozódása esetében

szignifikáns pozitív összefüggést találtunk a Cd ágakban és levelekben tapasztalt koncentrációja és az expozíció hossza között. A korreláció az ágak Zn-koncentrációja és a kezelés időtartama között szintén szignifikánsan pozitív volt. A fémek akkumulációját a kezelés 36. hónapjáig rendkívül intenzívnak találtuk.

#### A kosárfonó fűz fitoextrakciós potenciáljának vizsgálata

A talajminták vizsgálata során szignifikáns különbség volt a vizsgált és a kontrol terület nedvességtartalma, kémhatása és elemkoncentrációi között; a felsorolt paraméterek értékei a K-koncentráció kivételével szignifikánsan nagyobbak voltak a vizsgált területen. Ezen felül a vizsgált területen belül is különbségeket találtunk a szervesanyag-tartalom, illetve a Ca, K, Mg, Mn, Na, Ba, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr és Zn koncentrációit illetően. A talajok paramétereinek vertikális irányú változását vizsgálva a CDA azt mutatta, hogy a 0–10 cm és 11–20 cm mélységtartományokból származó talajminták fizikai és kémiai paramétereik, illetve elemkoncentrációik tekintetében különbözőek voltak a 61–70 cm és 71–80 cm mélységből származó mintáktól.

A kosárfonó fűz egyedek gyökereinek elemkoncentrációja szignifikánsan eltért a vizsgált terület és a kontrol terület között. A vizsgált terület egyes részei között ugyancsak szignifikáns különbségeket találtunk; az Al koncentrációja a mérsékelten szennyezett 2 területrészen volt szignifikánsan a legnagyobb, míg a Cd és Cu koncentrációinak maximumát a mérsékelten szennyezett 1 részen találtuk. A Pb és Zn a gyökerekben a mérsékelten szennyezett 2 részen volt jelen szignifikánsan a legkisebb koncentrációban.

A levelek elemkoncentrációit illetően ugyancsak szignifikáns különbség volt a vizsgált és a kontrol terület között; az Al, Fe, Mn és Sr koncentrációja a vizsgált területen volt nagyobb, míg a Ba, Cu és Ni a kontrol terület egyedeinek leveleiben volt jelen nagyobb

koncentrációban. A vizsgált terület egyes részei között az Al, Mn, Ba, Sr és Zn koncentrációiban volt megfigyelhető szignifikáns eltérés.

A fűz egyedek gyökereinek biokoncentrációs faktor (BCF) értékeit vizsgálva megállapítottuk, hogy az Al, Fe, Mn, Ba, Cr, Ni és Pb akkumulációja alacsony ( $BCF < 1$ ) mértékű, míg a Zn, Mn, Fe és Cu felvétele intenzív ( $BCF > 1$ ) volt. A fűzek leveleiben csekély mértékű volt az Al, Ba, Cr, Cu, Fe, Ni, Mn és Pb felvétele. A Cd, Sr és Zn esetében jelentős akkumulációt találtunk. Az elemek gyökerekből levelekbe történő transzlokációja (TF) az Al, Fe, Ba, Cr, Cu, Ni és Pb esetében csekély ( $TF < 1$ ), míg a Cd, Mn, Sr és Zn esetén intenzív ( $TF > 1$ ) volt.

A fűzek egészségi állapotában szignifikáns ( $p < 0,05$ ) eltérést találtunk a vizsgált terület három része között. Az egyedek kondíciója az erősen szennyezett részen szignifikánsan rosszabb volt, mint a mérsékelten szennyezett 1 és 2 részeken.

A talajparaméterek és a fűzek kondíciója közötti összefüggést vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a talaj elemkoncentrációi szignifikánsan befolyásolták a fűzek egészségi állapotát. A talaj és a növények elemkoncentrációi közötti összefüggést elemezve megállapítottuk, hogy a talaj Ba- és Sr-koncentrációja negatív, míg a Mn- és Zn-koncentrációja pozitív korrelációt mutatott az elemek levelekben mért koncentrációjával. A levelekben kimutatott elemek közül az Al, Fe, Ba, Cu és Pb koncentrációja volt szignifikáns hatással a fűzek kondíciójára.

#### A fehér libatop és kaporlevelű ebszékfű fitoextrakciós potenciálja

A begyűjtött növényfajok egyedeit elemezve a vizsgált terület három része között az általános lineáris modell (GLM) szignifikáns ( $p < 0,05$ ) különbségeket mutatott az Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ba és Zn koncentrációit illetően. Az elemkoncentrációk tekintetében a két faj összevetésében is eltéréseket tapasztaltunk. A K, Mg, Sr és Zn a

fehér libatop, míg az Al, Fe, Mn, Na, Ba, Cr, Cu, Ni és Pb koncentrációja a kaporlevelű ebszékfű egyedekben volt nagyobb.

A fehér libatop növényi szerveinek elemkoncentrációiban a főkomponens-analízis (PCA) eltéréseket mutatott. További vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a Ca, Fe, K, Mg, Mn, Cu, Sr és Zn koncentrációja a levelekben volt szignifikánsan a legnagyobb. Az Al és Ba felvételének intenzitása a szárban volt a legkisebb, míg a Na, Cr, Ni és Pb növényen belüli eloszlása nem különbözött jelentősen. A fehér libatop egyedek elemfelvétele átlagosan a mérsékelt szennyezett 2 részen volt a legintenzívebb.

A kaporlevelű ebszékfű elemfelvételét elemezve megállapítottuk, hogy a levelek elemakkumulációja PCA alapján eltért a gyökerekben és szárban tapasztaltaktól. A vizsgálatok igazolták, hogy az Al, Ba, Cr és Pb koncentrációja a gyökerekben, míg a Ca, K, Mg és Mn koncentrációja a levelekben volt szignifikánsan a legnagyobb. A Fe, Na, Cu és Ni felhalmozódása a szárban volt a legkevésbé intenzív. A Zn akkumulációja hasonló mértékűnek bizonyult az egyes növényi szervekben. A területrészeket illetően a kaporlevelű ebszékfű egyedek elemfelvétele a mérsékelt szennyezett 1 részen volt a legcsekélyebb mértékű.

A talajminták és a fehér libatop növényi szerveinek elemkoncentrációi között a mérsékelt szennyezett 1 részen korrelációt nem tapasztaltunk. Az erősen szennyezett részen a talajok és gyökerek Al- és Fe-koncentrációja között szignifikáns negatív, míg a talaj és a szár Pb-koncentrációja között szignifikáns pozitív korreláció volt. A mérsékelt szennyezett 2 részen az Al, Mg és Ba esetében a talaj és a szár között szignifikáns negatív, míg a Cr és Ni esetében a talaj és a gyökerek között szignifikáns pozitív korrelációt találtunk.

A talajminták és a kaporlevelű ebszékfű növényi szerveinek elemkoncentrációit korreláltatva a mérsékelt szennyezett 1 részen szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a talaj és a szár Fe-koncentrációja között. Az erősen szennyezett részen szignifikáns pozitív korreláció a talaj és a gyökerek között a Cu, a talaj és a szár

között a Ca, illetve a talaj és a levelek között a Sr koncentrációja esetében volt. A mérsékelten szennyezett 2 részen a talaj és a gyökerek között az Al esetében találtunk szignifikáns negatív korrelációt.

A fehér libatop elemfelvételének jellemzésére használt bioakkumulációs faktor (BAF) és biokoncentrációs faktor (BCF) értékei minden esetben 1 alattiak voltak, azaz az akkumuláció mértéke alacsony volt. A transzlokációs faktor (TF) esetében jelentős mértékű ( $TF > 1$ ) hajtásba történő áthelyeződést találtunk a Fe, Mn, Ba, Cu, Ni, Pb, Sr és Zn elemeknél. A legnagyobb átlagértéket a Ni (4,735) esetében a mérsékelten szennyezett 1 területrészen tapasztaltuk.

A kaporlevelű ebszékfű egyedek elemakkumulációja a BAF és BCF értékei alapján is alacsony mértékű ( $< 1$ ) volt. Ezzel szemben a TF vizsgálatok a Fe, Mn, Cu, Ni, Sr és Zn esetében is 1 fölötti értékeket, azaz az elemek jelentős mértékű növényen belüli áthelyeződését tapasztaltuk. A legnagyobb átlagértéket a Fe (4,986) esetében találtuk, a mérsékelten szennyezett 2 területrészen.

## Új tudományos eredmények

1. Fűz fajok esetében jelentős mértékű Pb-akkumuláció történik a gyökerekben és az ágakban is, mely rövid vágásfordulójú faültetvények esetén a Pb rendszeres és intenzív extrakcióját teszi lehetővé.
2. A fűz fajok ágainak és leveleinek Cd-akkumulációja, illetve ágainak Zn-akkumulációja az expozíció 36. hónapjának végéig intenzív, azaz a fémek felhalmozódása az érintett növényi szövetekben folyamatos koncentráció-növekedést eredményez.
3. Míg a fűz fajok fémakkumulációja során a talaj kémhatása a Cd felvételét alapvetően befolyásolja, addig a Pb és Zn akkumulációjára nincs jelentős hatással.
4. A kosárfonó fűz gyökerei a Cd, Cu, Sr és Zn, míg levelei a Cd és Zn nagymértékű akkumulációjára képesek.
5. A talajok elemkoncentrációja jelentősen befolyásolja a kosárfonó fűz elemakkumulációját és kondícióját egyaránt.
6. A vizuális állapotértékelés jól használható a kosárfonó fűz egyedek fitoextrakciós potenciáljának becslésére.
7. A Fe, Mn, Ni és Sr transzlokációjának mértéke a fehér libatop és a kaporlevelű ebszékfű esetében egyaránt rendkívül magas.
8. A szennyezett talajok elemkoncentrációjának fehér libatop és kaporlevelű ebszékfű egyedekkel történő sikeres csökkentéséhez valamennyi növényi szerv eltávolítása szükséges.

# **Remediation of soil metal contamination with plants**

## **Introduction**

In the past few centuries, human activities caused major quantitative and qualitative deterioration in the environment (Page et al. 2014). There are 1.5 million sites in Europe affected by soil pollution (Panagos et al. 2013). For the remediation of contaminated sites, alternative technologies are getting more and more attention. Phytoremediation is a green technology that utilizes plant characteristics to mitigate the environmental risk of contaminants and pollutants (Zhitovovsky et al. 2010). Among others, excess soil concentration of metals can be successfully lowered by plant metal uptake. Within phytoremediation, the method used to decrease soil metal concentration by plant accumulation is called phytoextraction (Wani et al. 2011). To be useful metal accumulators, plants have to be featured by several favourable traits such as fast growth, increased biomass productivity and tolerance to high metal concentrations (Dos Santos Utmazian & Wenzel 2007). Previous studies demonstrated that *Salix* (willow) species have high metal accumulation potential both by moderate and high soil contamination (Greger & Landberg 2015, Shi et al. 2017). In the cases of several weed species this favourable feature was also confirmed, while field application was highly suggested (Petřík et al. 2009, Bandiera et al. 2016).

## **Aims and hypotheses**

To assess the phytoextraction potential of *Salix* species we studied the metal (Cd, Pb and Zn) accumulation potential in plant parts of *Salix* species by yielding data from previous relevant publications by meta-analysis. We investigated (1) how soil acidity influenced the mobility and accumulation of metals. Furthermore, we studied (2) the

correlation between the accumulations of the metals, and also (3) the changes in metal accumulation in plant parts in relation to exposure time.

In a field study, we assessed the metal accumulation potential of *Salix viminalis* L. (Basket willow) in a former wastewater settling pond system (Lovász-zug) in Debrecen. We hypothesized that (1) moderate soil contamination did not have negative effect on tree condition. Furthermore, (2) correlations in metal accumulation between soil and roots, and between soil and leaves were also hypothesized, while (3) we expected the highest metal concentrations in leaves with translocation factor values exceeding 1.

To study the phytoextraction potential of weeds, the element accumulation potential of two weed species (*Chenopodium album* L. and *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip.) were analysed by moderate to strong soil contamination levels in Lovász-zug pond system. We hypothesized that (1) *C. album* is a successful element accumulator species with high element concentrations in all the plant parts, especially in roots and leaves. Furthermore, (2) in the case of *T. inodorum*, by the published results of the related species, we also expected good element accumulation potential.

## **Materials and methods**

In the case of the meta-analyses study of *Salix* species, literature search was performed on Web of Science for the period 1975–2016. Data of included publications had to report metal (Cd, Pb and Zn) concentrations ( $\pm$ SD or SE and sample size) of soils and plant parts (root, stem, twig and leaf) of species both in uncontaminated and contaminated areas. Studies involving application of compounds facilitating metal uptake were excluded from the analyses. In the cases of comparisons between data from uncontaminated and contaminated areas, the unbiased standardized mean difference (Hedges' *g*) was calculated as a common effect size. The effects of moderators (root, stem, twig and leaf) and the overall effect were estimated by random-



effects model. Furthermore, homogeneity of the variances was also studied. By heterogeneity (varying effect sizes across studies), interpretation of results had to be different from that in the case of consistent effect sizes. To describe the heterogeneity of effects between studies, we calculated complementary measures of heterogeneity;  $Q$ ,  $I^2$  and  $P^2$ . In order to evaluate the proportion of true variance explained by the covariates (subgroup classification),  $R^2$  was calculated (Borenstein et al. 2009). In addition, we did analyses to test publication bias and potentially biased effect sizes by using funnel plots and Egger's test (Borenstein et al. 2009). By significant asymmetries, we used *trim and fill* method (Duval & Tweedie 2000).

Meta-analyses, heterogeneity measures, and publication bias assessment were done by the MAAd and metafor packages (Viechtbauer 2010, Del Re & Hoyt 2014) in the R version 3.2.4 (R Core Team 2018). To assess further factors influencing metal accumulation in trees, effects of pH and exposure time were studied. Correlations between accumulations of metals were assessed by linear models using *lm* method in R.

To assess the phytoextraction potential of *Salix viminalis*, nine soil cores were collected from each of the three parts (Northern–moderately contaminated 1; middle–strongly contaminated; Southern–moderately contaminated 2) of the study area in September 2015. Within a soil core, eight subsamples were taken from different depth ranges ( $N_{\text{sum}}=216$ ). Control surface soil samples were collected from an uncontaminated area of the Wastewater Treatment Plant of Debrecen ( $N=5$ ). Root and leaf samples were also collected from two *S. viminalis* individuals around each soil core, from the differently contaminated parts of the study area. Trees were also sampled in the control area ( $N=5$ ). To study the phytoextraction potential of trees, we calculated bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) values. Furthermore, we assessed the condition of trees from the moderately contaminated 1 ( $N=500$ ), strongly contaminated ( $N=250$ ) and moderately contaminated 2 ( $N=200$ ) parts of the study area. During analyses, the method of Webster (1978) was used. With this,

trees were assessed with scores by six factors: (i) trunk condition, (ii) growth rate, (iii) structure, (iv) disease, (v) crown development and (vi) life expectancy. Considering these factors, each tree was classified into one of the following condition groups: excellent (26–23), good (22–19), fair (18–14), poor (13–10), and very poor (9–6).

To study the phytoextraction potential of *Chenopodium album* and *Tripleurospermum inodorum*, soil samples were collected from the three differently contaminated parts of the study area as previously described. Five individuals of the two species were collected from a radius of 10 m around each soil core in September 2015. From soil samples, soil moisture content, acidity, organic matter content and element concentrations (Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ba, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr and Zn; Agilent MP-AES 4100) were determined.

In the laboratory, *S. viminalis* (roots and leaves), *C. album* and *T. inodorum* (roots, stem and leaves) samples were thoroughly washed with tap water. After that, samples were dried at room temperature and at 60 °C. Then, plant parts were homogenized. During element analysis, concentrations of the following elements were determined with MP-AES 4100: Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ba, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr and Zn.

To study the phytoextraction potential of *S. viminalis*, we calculated bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) values, while in the cases of *C. album* and *T. inodorum* bioaccumulation factor (BAF), bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) values were calculated.

During statistical analyses of the element accumulation of *S. viminalis*, canonical discriminant analysis (CDA), one-way ANOVA, Levene's test and non-parametric Kruskal–Wallis test were used. For correlation analyses rank correlation and Pearson correlation were used. Analysing the element accumulations in *C. album* and *T. inodorum*, natural logarithm (ln) of the concentration values were used. To assess the differences between species, plant parts and the parts of the study area, general linear model (GLM) was implemented.

## Results

### Meta-analyses of the phytoextraction potential of *Salix* species

Literature search yielded 527 publications, out of which 8 papers included data needed for the meta-analyses. From these publications, a total number of 194 uncontaminated-contaminated comparisons were extracted. In the analyses, we found higher plant concentrations of Cd, Pb and Zn in contaminated areas than in uncontaminated areas by each of the comparisons. Concentrations of metals were found to be significantly different among plant parts.

We showed that willows are prosperous accumulators of Cd (twigs and leaves), Pb (roots and twigs) and Zn (twigs). Additionally, we also confirmed that willow species have temporally changing metal concentrations: Cd (twigs and leaves) and Zn (twigs) concentrations were found to be significantly increased by the 36<sup>th</sup> month of exposure. As expected, we indicated that intensity of Cd accumulation was higher in soil samples with low pH values than in those with high values. Regarding interactions between metals, we found significant positive correlation between accumulations of Cd and Zn in stem. Summing up these results, we highlighted the great metal accumulation potential and applicability of willow species in short- and mid-term phytoextraction processes.

### Phytoextraction potential of *Salix viminalis*

In our results, we found significant ( $p < 0.05$ ) differences in element concentrations between the study and control areas, and among the three parts of the study area. Furthermore, vertical differences were also found in element concentrations; concentrations in samples from 0–10 and 11–20 cm were different than those from 61–70 and 71–80 cm depth ranges. In contrast with the expectations, element concentrations in roots and leaves were generally low. Correlation was found in element concentrations between soil and

leaves, while root concentrations did not differ significantly from each other among the three parts of the study area. High BCF values were demonstrated for Cd, Cu, Sr and Zn in roots, and for Cd and Zn in leaves. The highest TF values were found for Mn, Cd, Sr and Zn. As expected, tree condition values were the lowest in the strongly contaminated part of the study area. We indicated that the condition scores could be influenced by concentrations of Al, Ca, K, Mg, Ni, Sr and Zn. It could be concluded that soil element concentrations had great influence on tree condition. Furthermore, we found that leaf Al, Fe, Ba, Cu and Pb concentrations also affected tree condition.

#### Phytoextraction potential of *Chenopodium album* and *Tripleurospermum inodorum*

With general linear model (GLM), we found significant differences in Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ba and Zn concentrations in plants among the three parts of the study area. Furthermore, *C. album* was a better accumulator of K, Mg, Sr and Zn, while accumulations of Al, Fe, Mn, Na, Ba, Cr, Cu, Ni and Pb were more intensive in *T. inodorum*. Concentration of Cd was below detection limit in each plant part of both species, so the element was left out of further analyses.

We demonstrated significant correlation in element concentration between soil and plant samples. In the strongly contaminated part of the study area, we found significant negative correlation between soil and *C. album* root Al and Fe concentrations, and significant positive correlation between soil and stem Pb concentration. In the moderately contaminated 2 part, significant negative (soil-stem: Al, Mg and Ba) and significant positive (soil-roots: Cr and Ni) correlations were also found. In the case of *T. inodorum*, significant positive correlation was indicated between soil and stem Fe concentration in the moderately contaminated 1 part. In the strongly contaminated part, we demonstrated significant positive

correlation between soil and roots (Cu), soil and stem (Ca), and soil and leaves (Sr). Correlation was significant negative in the moderately contaminated 2 part between soil and roots (Al).

In contrast with our hypotheses, element accumulation potential was low in the cases of both species; BAF and BCF values were very low ( $<1$ ) for all the plant parts. However, translocation potential was very good in the cases of several elements. TF values were higher than 1 for Fe, Mn, Ba, Cu, Mn, Ni, Pb, Sr and Zn in *C. album*, and for Fe, Mn, Ni, Sr and Zn in *T. inodorum*.

We concluded that both species had lower element accumulation potential than previously expected. By the high TF values we suggested that eliminating the whole plants is necessary to avoid secondary contamination caused by element-rich biomass.

### **Novel scientific findings**

1. We found that there is an intensive Pb-accumulation in the roots and twigs of *Salix* species. Based on this, removal of soil Pb by trees could be continuous and successful in short rotation coppice (SRC).
2. Accumulation of Cd in twigs and leaves, and Zn in twigs of *Salix* species are intensive until the 36<sup>th</sup> month of exposure, resulting in a gradual enrichment of Cd in plant tissues.
3. Soil acidity conditions have major effect on Cd accumulation in *Salix*, while uptake of Pb and Zn is less influenced by soil pH.
4. In the case of *Salix viminalis*, Cu and Sr are accumulated primarily in roots, while Cd and Zn are sequestered both in roots and leaves.
5. There is strong correlation in element concentrations between soil and plant parts of *S. viminalis*.
6. Visual condition assessment is a useful tool in studying phytoextraction potential of *S. viminalis*.
7. Translocation of Fe, Mn, Ni and Sr are intensive in the cases of both *Chenopodium album* and *Tripleurospermum inodorum*.
8. To exploit the good phytoextraction potential of *C. album* and *T. inodorum*, eliminating the whole plants is required.

## Irodalomjegyzék / References

- Bandiera, M., Dal Cortivo, C., Barion, G., Mosca, G. & Vamerali, T. 2016: Phytoremediation opportunities with alimurgic species in metal-contaminated environments. *Sustainability* 8: 357.
- Bissonnette, L., St-Arnaud, M. & Labrecque, M. 2010: Phytoextraction of heavy metals by two Salicaceae clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant and Soil* 332: 55–67.
- Borenstein, M., Hedges, L.V., Higgins, J.P.T. & Rothstein, H.R. 2009: Introduction to meta-analysis. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.
- Del Re, A.C. & Hoyt, W.T. 2014: MAd: Meta-analysis with mean differences. R package version 0.8-2., <http://cran.r-project.org/web/packages/MAd>.
- Dos Santos Utmazian, M.N. & Wenzel, W.W. 2007: Cadmium and zinc accumulation in willow and poplar species grown on polluted soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170: 265–272.
- Duval, S. & Tweedie, R. 2000: Trim and fill: A simple funnel-plot-based method of testing and adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics* 56: 455–463.
- Greger, M. & Landberg, T. 2015: Novel field data on phytoextraction: Pre-cultivation with *Salix* reduces cadmium in wheat grains. *International Journal of Phytoremediation* 17: 917–924.
- Nica, D.V., Bura, M., Gergen, I., Harmanescu, M. & Bordean, D.M. 2012: Bioaccumulative and conchological assessment of heavy metal transfer in a soil-plant-snail food chain. *Chemistry Central Journal* 6: 55.

- Page, K., Harbottle, M.J., Cleall, P.J. & Hutchings, T.R. 2014: Heavy metal leaching and environmental risk from the use of compost-like output as an energy crop growth substrate. *Science of the Total Environment* 487: 260–271.
- Panagos, P., van Liedekerke, M., Yigini, Y. & Montanarella, L. 2013: Contaminated sites in Europe: review of the current situation based on data collected through a European network. *Journal of Environmental and Public Health*, Article ID 158764.
- Petřík, P., Soudek, P., Benešová, D., Najmanová, P., Najman, M. & Vaněk, T. 2009: Flora of toxic depots in selected industrial zones. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 78: 327–334.
- Pulford, I.D. & Watson, C. 2003: Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environment International* 29: 529–540.
- R Core Team 2018: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Viechtbauer, W. 2010: Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *Journal of Statistical Software* 36: 1–48.
- Wani, B.A., Khan, A. & Bodha, R.H. 2011: *Salix*: A viable option for phytoremediation. *African Journal of Environmental Science and Technology* 5: 567–571.
- Zhivotovsky, O.P., Kuzovkina, J.A., Schulthess, C.P., Morris, T., Pettinelli, D. & Ge, M. 2010: Hydroponic screening of willows (*Salix* L.) for lead tolerance and accumulation. *International Journal of Phytoremediation* 13: 75–94.



## **Tózsér Dávid publikációi / Publications of Dávid Tózsér**

*Impakt faktoral rendelkező, angol nyelvű közlemények / Papers with impact factor in English*

**Tózsér, D.**, Harangi, S., Baranyai, E., Lakatos, Gy., Fülöp, Z., Tóthmérész, B. & Simon, E. (2018): Phytoextraction with *Salix viminalis* in a moderately to strongly contaminated area. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 3275–3290.

IF: 2,741 (2016)

**Tózsér, D.**, Magura, T. & Simon, E. (2017): Heavy metal uptake by plant parts of willow species: A meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials* 336: 101–109.

IF: 6,065 (2016)

*Impakt faktoral nem rendelkező, magyar nyelvű közlemények / Papers without impact factor in Hungarian*

**Tózsér, D.** & Lakatos, Gy. (2015): Szennyvíziszapra telepített kosárfonó fűz (*Salix viminalis* L.) csemeték fitoremediációs sikerességének vizsgálata. *Hidrológiai Közöny* 96: 93–95.

*Konferenciák / Conferences*

Mizser, Sz., **Tózsér, D.**, Magura, T., Papp, D., Simon, E. & Tóthmérész, B. (2018): Accumulation of metals in ground beetles – a meta-analysis. 14<sup>th</sup> Central European Workshop on Soil Zoology, České Budějovice, Czech Republic, April 16–18, 2018 /poster/

**Tózsér, D.**, Harangi, S., Baranyai, E., Lakatos, Gy., Fülöp, Z., Tóthmérész, B. & Simon, E. (2017): Study of bioremediation with *Salix viminalis* in a moderately contaminated area. 6. Kárpátok Eurorégió Környezetvédelmi Nemzetközi Konferencia, Beregszász, Ukrajna, 2017. március 30–április 01. /poster/

**Tózsér, D.** & Lakatos, Gy. (2015): Szennyvíziszapra telepített kosárfonó fűz (*Salix viminalis* L.) csemeték fitoremediációs sikerességének vizsgálata. LVII. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2015. október 07–09. /poster/



Nyilvántartási szám: DEENK/182/2018.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tózsér Dávid  
Neptun kód: HY4E2N  
Doktori Iskola: Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10057273

## A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

### Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. **Tózsér, D.**, Harangi, S., Fehérmé Baranyai, E., Lakatos, G., Fülöp, Z., Tóthmérész, B., Simon, E.:  
Phytoextraction with *Salix viminalis* in a moderately to strongly contaminated area.  
*Environ. Sci. Pollut. Res.* 25 (4), 3275-3290, 2018. ISSN: 0944-1344.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-017-0699-2>  
IF: 2.741 (2016)
2. **Tózsér, D.**, Magura, T., Simon, E.: Heavy metal uptake by plant parts of willow species: A meta-analysis.  
*J. Hazard. Mater.* 336, 101-109, 2017. ISSN: 0304-3894.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.03.068>  
IF: 6.065 (2016)





## További közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

3. **Tózsér, D., Lakatos, G.:** Szennyvíziszapra telepített kosárfonó fűz (*Salix viminalis* L.) csemeték fitoremediációs sikerességének vizsgálata.

*Hidrol. Közlöny.* 96 (1), 93-95, 2016. ISSN: 0018-1323.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 8,806**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):  
8,806**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2018.05.28.

