

**Nano szemcseméretű fém-oxidok hatásai a talajban élő kiemelt
ökológiai jelentőségű mikroorganizmusokra
– Szemle –**

KISS Lola Virág, HRÁCS Krisztina, NAGY Péter István és SERES Anikó

Szent István Egyetem, Állattani és Állatökológiai Tanszék, Gödöllő

**A mezőgazdasági gyakorlatban alkalmazott és a
talajszervezetekre leginkább ható nanoméretű fém-oxidok
bemutatása**

A nanotechnológia napjainkban

A nanotechnológia a 21. század egyik leggyorsabban fejlődő iparága. A nanoanyagok közé tartoznak azok az anyagok, amelyek legalább egy dimenzióban az 1–100 nm-es mérettartományba esnek. Régebben ezek az anyagok a kolloidika tudományterületébe tartoztak. Kolloid rendszernek nevezzük azokat a diszperz rendszereket, ahol a részecskék mérete a néhánytól a néhány száz nm-ig terjedhet (GILÁNYI, 2005). Az ebbe a mérettartományba tartozó anyagok a nanoméret következtében minőségileg új tulajdonságokkal rendelkeznek, így más környezeti kockázattal is járhatnak, mint a nagyszemcsés megfelelőjük. A méretük-ből adódóan megváltozott tulajdonságaikat használják ki, mind a kozmetikai-, az elektronikai- és a gyógyszeriparban, valamint az agrárágazatokban. Ugyanakkor a lehetséges veszélyeikkel, sokkal kisebb mértékben vagy egyáltalán nem foglalkoznak. A legtöbb nano szemcseméretű anyag által előidézett környezeti kockázat még felderítetlen, ennek ellenére már több éve nagy mennyiségben használják őket és így közvetlenül vagy közvetett utakon ki is kerülhetnek a természetbe.

A nano mérettartományban az anyagok fizikai, kémiai és mechanikai tulajdonságai lényegesen megváltoznak. A méret csökkenésével nő a fajlagos felület, ugyanakkor a tömeg nem változik. Az anyagok biológiai elérhetősége és toxicitása megnövekedhet a fajlagos felület és a reakcióképesség emelkedésével. A nanoanyagok ökototoxicitására vonatkozóan kevés adat ismert (KAHRU & DUBOURGUIER, 2009). A nanorészecskék képesek átjutni a legerősebb biológiai membránokon is, mint például a vér-agy gáton, és ezen keresztül a központi idegrendszerbe is bekerülhetnek (LEE et al., 2007; XIA et al., 2008; NEL et al., 2009). A reaktív oxigén-gyökök fokozott termelődése számos nanoszemcsés anyag, főleg a fém-oxidok esetében kimutatható (PANDICS, 2008).

A nanorészecskéket kémiai szempontból különböző kategóriákba sorolhatjuk, mint az elemek, a vegyületek és a biológiai struktúrák. Az általunk vizsgált csoport, a fém-oxidok csoportja, a szervetlen vegyületek közé tartozik. Ezek az oxigén fémekkel alkotott vegyületei, döntően O^{2-} ionokat tartalmazó vegyületek. Mivel nagy mennyiségben és sok területen használják ezeket a nanoszemcsés fém-oxidokat a talajok a kezelésére is, így célszerű ezekkel az anyagokkal foglalkozni a talajbióta stresszválaszainak vizsgálata során. A különböző nehézfémek hatásait talajmikrobákra több magyar kutató is vizsgálta (VÖRÖS et al., 1998; TAKÁCS & VÖRÖS 2003; BIRÓ et al., 2005; SZÉCSY et al., 2011), viszont a nanoméretű fém-oxidokra jóval kevesebb vizsgálat született (KISS et al., 2015). Alkalmazásukból eredően a talaj élővilága számára környezeti kockázatot jelentő fém-oxidok: a szilícium-dioxid (SiO_2), a titán-dioxid (TiO_2), az alumínium-oxid (Al_2O_3), a cérium-oxid (CeO_2), a vas-oxid (Fe_2O_3 vagy Fe_3O_4), a cink-oxid (ZnO) és a réz-oxid (CuO).

A fém-oxidok kémiai heterogén vegyületcsoport, amely nem rendelkezik egységes olvadás- és forrásponttal (PÁNDICS, 2008). A fém-oxidok – hasonlóan a többi nanoanyaghoz – keletkezhetnek természetes úton és antropogén behatásra. Az utóbbi lehet szándékolt tevékenység, illetve spontán, emberi tevékenységtől nem függő reakciók eredménye is. Például a kőzetmállásból származó nanoporok elsősorban fém-oxidokat (SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3), illetve karbonátokat tartalmaznak. Fő forrásaik az elszívatosodott területek. Mivel emberi tevékenység okozta talajerózió által kialakuló sivatagos területeken is találhatunk nanoporokat, így ezt nevezhetjük közvetett antropogén eredetnek (PÁNDICS, 2008). Emellett az erdőtüzek során keletkező füst szintén nagymennyiségben tartalmaz fém-oxidokat, főleg vas, szilícium és alumínium-oxidot. A nanoanyagok tervezett előállításánál is létrehozunk fém-oxidokat, amelyeket elsősorban a kozmetika-, a gyógyszer- és az elektronikai iparban használnak fel (PÁNDICS, 2008). A tervezett előállítás történhet biológiai és kémiai úton. A biológiai előállítás során egyes baktériumokat és gombákat használnak fel arra, hogy azokkal nanorészecskéket szintetizáltassanak. Például JAYASEELAN és munkatársai (2012) *Aeromonas hydrophila* sejteket használt a nZnO szintetizálására. Sokféle nanoméretű fém-oxidot fejlesztenek ki és használnak különleges katalitikus aktivitásuk, optoelektronikai tulajdonságaik, antimikrobiális aktivitásuk, valamint egyéb tulajdonságaik miatt (MA et al., 2013). A fém-oxidok hatása és mozgása a talajban függ a pH-tól, az ionos erősségtől, az ásványi és szerves kolloid tartalomtól, az ionok mozgási sebességétől, a koncentrációtól, a felületi kezeléstől, mint például a polimerektől, a huminsavaktól és az egyéb felületaktív anyagoktól (SUN et al., 2015).

Ebben az összefoglaló cikkben azt mutatjuk be, hogy különböző talajban élő mikroorganizmusokra (baktériumokra és gombákra) milyen hatással vannak a közvetlenül vagy közvetetten talajba került nanoméretű fém-oxid vegyületek.

A leggyakrabban vizsgált fém-oxidok

A ZnO nanostruktúrát sokféleképpen alkalmazzák sokoldalúsága és kompatibilitása miatt. A nZnO iránti nagy érdeklődés a lehetséges alkalmazások változatosságá-

gából ered az elektronikában (félvezető tulajdonsága miatt) és a biológiai anyagoknál egyaránt (KUCHIBHATLA et al., 2006). Ezen felül használják még környezeti kármentesítésre, termékek adalékanyagaiként, élelmiszerekben (Zn tápanyagforrás), kozmetikai szerekben, valamint naptejekben a kiváló UV abszorpciós és reflexiós tulajdonságai miatt (MA et al., 2013). A cink-oxidot talajremediáció és műtrágyázás során is felhasználják, így közvetlenül is bejuthat a talajba.

A $n\text{TiO}_2$ – hasonlóan a $n\text{ZnO}$ -hoz – már akaratlanul is a mindennapjaink részévé vált. Felhasználják ugyanis gyógyszerek, ételek és kozmetikumok adalékanyagaiként, majdnem minden háztartásban megtalálható, opacitásnövelő képessége miatt tartalmazhatják festékek, a vakolat és még a tetőcserepek is (JIANG et al., 2009b). Emellett alkalmazható katalizátorként és víztisztításra is. A $n\text{TiO}_2$ az egyik legjobban vizsgált fémoxid nanoanyag abból a szempontból, hogy milyen a kolloid stabilitása és a környezetbe jutva a további sorsa (SCHAUMANN et al., 2015). GONDIKAS és munkatársai (2014) vizsgálatai alapján a naptejekből származó $n\text{TiO}_2$ részecskék jelentős mennyiségben bejuthatnak a vízi életközösségekbe és onnan tovább a talajba is.

A $n\text{CuO}$ javítja a folyadékok viszkozitását és fokozza a hővezető képességet, ezek a tulajdonságok teszik nagyon jó energiatakarékos anyaggá. Használják gáz szenzorokban, katalizátorként, elemekben, magas hőmérsékletű szupravezetőkben és napelemekben is (JIANG et al., 2002; GODWIN et al., 2009; XU et al., 2015). A súrlódás csökkentő és a kopásállóságot javító hatásai miatt még kenőanyagok, polimerek/műanyagok és fémbevonatok adalékanyagaiként is alkalmazzák (CHANG et al., 2012).

Dielektromos és koptató tulajdonságai miatt az $n\text{Al}_2\text{O}_3$ -ot széleskörűen használják szigetelő és koptató anyagként (JIANG et al., 2009b). Ezen felül alkalmas még a polimerek merevségének és erősségének javítására, a SiO_2 -al együtt (ZHENG et al., 2009).

A $n\text{SiO}_2$ -ot kristályosformában az elektronikában félvezetőként használják (JIANG et al., 2009). Az iparban széleskörűen alkalmazzák, általában anyagok erősítésére, sűrítésére és elegyengetésére. A puccolánként (cement kiegészítő anyag) és a finom részecskéi miatt beton adalékanyagaként is egyre inkább elterjedt lesz (LAZARO et al., 2013).

A nanoméretű Fe_3O_4 -ot és az Fe_2O_3 -ot a mágneses rögzítésnél, adattárolásnál, tonerekhez és tintához fénymásolásnál, szennyvízkezelésnél és az orvostudományban használják tartósságuk és az UV abszorpciós tulajdonságuk miatt (MOHAPATRA & ANAND, 2010). Ezeket az anyagokat főként vízi szervezeteken szokták tesztelni, így ebben az áttekintésben szerepük kevésbé hangsúlyos.

A nanoméretű fém-oxidok lehetséges mezőgazdasági vonatkozásai

A nanoanyagoknak, azon belül a nanoméretű fém-oxidoknak többféle felhasználása lehetséges a mezőgazdaságban is (BAKONYI, 2014). Leginkább a növényvédelemben, például a patogén szervezetek és a peszticid maradékok kimutatásában, a növények állapotának és a stressz válaszok nyomonkövetésében használják fel őket.

Ezek a műveletek nanoszenzorokkal történhetnek. A nanoanyagok továbbá gyorsíthatják a csírázást és a termelést (CHEN & YADA, 2011; KHOT et al., 2012).

A félvezető nanorészecskés fém-oxidokat a fotokatalitikus tulajdonságuk miatt, a szerves peszticidek és az ipari szennyezők ártalmatlan vagy akár hasznos anyagokká történő átalakítása során is alkalmazzák. Ilyen tipikus félvezetők: a TiO_2 , a ZnO és a Fe_2O_3 (BARUAH & DUTTA, 2009). Mindemellett különböző, a precíziós felhasználást lehetővé tévő műtrágyaformák fejlesztése is folyamatban van – amelyek közvetlenül oda és olyan mennyiségben juttatják el a hatóanyagot, ahogy a kijuttató szeretné (LAL, 2007; BAKONYI et al., 2009). Használatuk azért is terjed, mert úgy gondolják, hogy hatékonyabban és kevesebb környezeti mellékhatással tudják őket alkalmazni, mint a hagyományos növényvédőszerket.

A legnagyobb probléma a nanoanyagok használatával a mezőgazdaságban: az élőlényekre kifejtett toxikus hatások, a potenciális szermaradványok az élelmiszerekben, valamint az anyagok lehetséges fitotoxicitása. KHOT és munkatársai (2012) szerint a megfelelő modellek használatával és háttérvizsgálatok elvégzésével meg lehet találni a középutat a nanoanyagok tudatos, toxikus mellékhatások nélküli használatára. Fontos lenne ebben az esetben predikciókat tenni lehetőleg minden egyes felhasznált nanoanyag környezeti sorsára és hatásaira vonatkozóan. Ezeket a predikciós modelleket kellő számú specifikus vizsgálatra alapozva lehetne elérni. Szükséges lenne tehát megvizsgálni minél több nanoszerkezetű anyag mozgását, átalakulásait és toxikus hatásait a környezetben. Fentieken túlmenően vizsgálni kellene ezen anyagok toxikokinetikáját az élőlényekben, tehát a felvétel és leadás, valamint a szervezeten belüli folyamatok (eloszlás, átalakulás, raktározás) kérdéseit.

A nanoszemcsés fémoxidok használata során felmerülő tesztelési és alkalmazási problémák

Az általános tesztelési gyakorlati módszereket nem feltétlenül használhatjuk a nanoanyagok vizsgálatánál. Sokkal több szempontot és változót kell figyelembe vennünk egy ilyen kísérlet során. Mivel nincs egységes tesztelési rendszer, minden laboratórium más módszerrel vizsgálja a nanoszemcsés anyagokat, így az eredmények nehezen összevethetőek. OBERDÖRSTER és munkatársai (2005) három fő elemet vázolt fel a nanoszemcsék toxicitásának vizsgálatához. Az első a megfelelő fizikai-kémiai karakterizáció (méret, felület, alak, oldhatóság, aggregáció), a második és a harmadik a biológiai hatások felderítése *in vitro* és *in vivo* kísérletekben. A karakterizáció során az anyagok ionos erősségét, pH-ját és a felületi kémiáját (ami a diszperziót befolyásolhatja) is fontos megvizsgálni (JIANG et al. 2009a). Az *in vivo* tesztek drágák, hosszú ideig tartanak és etikai problémákat is felvethetnek, ezért főként az *in vitro* tesztelés a gyakori, amelyek során arra törekednek, hogy megőrizzék a hatékonyságot és a kockázat értékelés megbízhatóságát. Ezen felül még kontrollált körülmények között több faktort is vizsgálhatnak, többek között a nanoszemcsék kötődését a sejtekhez, a sejten belüli elhelyezkedésüket, esetleges változásokat a gén vagy fehérje expresszióban, a sejtorganelumok és membránok struktúráját, az életképességet és a sejtciklust is (KAHRU et al., 2008.).

PETERSEN (2015) az előbb említetteken felül még azt tanácsolja a nanoanyagok tesztelésénél, hogy minden lehetséges változóval egy kontroll kísérletet vigyünk véghez, így növeljük a tesztünk megbízhatóságát. Az első, amit javasol, hogy nézzük meg az anyag hatását közvetlenül az expozíció kezdetekor, hogy ki tudjuk szűrni azokat a hamis pozitív, illetve negatív hatásokat, amik a teszt közeg miatt jöhetnek létre. Véleménye szerint szükséges még a felületkezelő anyagok, a diszpergens anyagok, a kioldódott ionok, a fény-árnyék váltakozás és a szonikálás hatásait is megvizsgálni. Fontos lehet a nanoszemcsés fémoxidok endotoxinokra gyakorolt esetleges hatásának tanulmányozása is.

A leginkább tanulmányozott mikroorganizmus-csoportok érzékenységének összehasonlítása

Fém-oxidok hatásai a talajban élő baktériumokra

A talajban élő baktériumok aktívan részt vesznek az ott zajló bonyolult és összetett folyamatokban. A legtöbb a talaj felső 10–20 cm-ben él, mivel itt található a szerves anyagok nagy része. Fontos szerepet töltenek be a lebontásban (pl.: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*), a nitrogénkötésben (pl.: *Azotobacter sp.*, *Agrobacterium sp.*, *Rhizobium sp.*) és az ehhez szervesen kapcsolódó tápanyagforgalomban is (ABBOTT & MURPHY, 2003). A táplálékláncban betöltött helyük miatt akár a fém-oxidok biomagnifikációjában (vegyületek tápláléklánci feldúsulása) is részt vehetnek (MA et al., 2013).

A fém-oxidok toxikus hatásait elsősorban patogén baktériumokon (ZHANG et al., 2007; GUNALAN et al., 2012; JAYASEELAN et al., 2012; DHANALAKSHMI et al., 2013) és ökológiailag fontos szerepet betöltő baktériumokon tesztelték (ADAMS et al., 2006; JIANG et al., 2009b; SHARMA et al., 2010; DIMPKA et al., 2011).

A legsűrűbben vizsgált fém-oxidok a ZnO, a TiO₂, a CuO, de ezeken felül találkozhatunk kísérletekkel, ahol a SiO₂, a Al₂O₃, a Fe₂O₃ és a Fe₃O₄ anyagok hatását is vizsgálták. A kísérletekben leggyakrabban használt végpontok a növekedésgátlás és a sejtek életképessége (MA et al., 2013).

A kísérletek nagyon különböző eredményeket hozhatnak a tesztfajtól, a használt módszertől, illetve az anyag kémiai összetételétől függően. A legnagyobb hatása a fém-oxidoknak a baktériumok közösségének összetételére és diverzitására volt, valamint csökkentette a mikrobiális biomasszát (BOUR et al., 2015).

A nZnO-dal számos kísérletet végeztek (1. táblázat). A nZnO fitotoxicitása ismert, kevés vizsgálat irányul azonban a baktériumokkal mutualista kapcsolatban élő növények tesztelésére. BANDYOPADHYAY és munkatársai (2015) kísérletében nZnO, nagyszemcsés ZnO és ZnCl₂ hatásátvizsgálták nitrogénkötő baktériummal (*Sinorhizobium meliloti*) beoltott lucernára (*Medicago sativa*). Három koncentrációval dolgoztak: 250, 500 és 750 mg Zn·kg⁻¹. Eredményeik szerint a nZnO kevésbé bizonyult toxikusnak, mint a ZnCl₂. A nagyszemcsés ZnO ezekkel ellentétben serkentette a növény növekedését.

1. táblázat
Különböző szemcseméretű ZnO fizikai és kémiai tulajdonságai, valamint toxicitása
egyed talajbaktérium fajokra

(1) Teszt fajok	(2) Anyag származása	(3) Részecske nagyság	(4) Koncentráció	(5) Hatás**	(6) Referencia
		nm	mg·l ⁻¹ / *mM	%	
<i>A. Patogén fajok</i>					
<i>Citrobacter freundii</i>	kémiai úton előállított	25	10,8*	100 (NG)	GUNALAN et al., 2012
	biológiai úton előállított	40	10,2*		
<i>Proteus mirabilis</i>	kémiai úton előállított	25	8,6*	100 (NG)	
	biológiai úton előállított	40	7,8*		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	biológiai úton előállított	57,72	25	22±1,8 (NG, mm)	JAYASEELAN et al., 2012
<i>B. Ökológiai szempontból kiemelt fajok</i>					
<i>Bacillus subtilis</i>	Zhejiang Hongseng Material Technology Co.	20	20	100 (M)	JIANG et al., 2009b
<i>B. subtilis</i>	Sigma- Aldrich	480	500	98±1,4 (NG)	ADAMS et al., 2006
<i>Pseudomonas clororaphis</i>	Sigma- Aldrich	<100	500	14,8 (NG)	DIMKPA et al., 2011
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Zhejiang H. M. T. C.	20	20	100 (M)	JIANG et al., 2009b
<i>Pseudomonas sp.</i>	kémiai úton előállított	28 (felület- aktív anyag nélkül) 3,8 (szobahő- mérsékleten) 3,7 (vákuum alatt)	100*	120 CFU·ml ⁻¹	SHARMA et al., 2010

Megjegyzés: * mértékegység: mM; **M: mortalitás, NG: növekedés gátlás; CFU: Colony Forming Unit (Telepképző egység); A koncentrációknál azt az értéket tüntettük fel, amely-nél a legnagyobb növekedésgátlást tapasztalták a tesztek során

A nZnO hatását talajbaktériumok közül különböző *Pseudomonas* fajokra is vizsgálták.

A *Pseudomonas chlororaphis* 06 (DIMKPA et al., 2011) és a *Pseudomonas putida* KT2440 (GAJJAR et al., 2009) fajok, illetve törzsek eltérő módon reagáltak a nZnO-ra. A Pc06 törzs ellenállóbbnak bizonyult a *Pseudomonas putida* KT2440-nál vizes oldatban. DIMKPA és munkatársai (2011) kísérletében mind a nZnO, mind a Zn ionok akkumulálódtak a *P. chlororaphis* 06 sejtjeiben. A nZnO a tesztekben alkalmazott koncentrációknál (1. táblázat), ezekre a fajokra inkább bakteriosztatikus, mint letális. A nagyszemcsés ZnO nem volt toxikus, így arra lehet következtetni, hogy ha a nanoméretű szemcsék aggregálódnak, azoknak a toxikus hatása is csökken (GAJJAR et al., 2009). GUNALAN és munkatársai (2012) a biológiai és a kémiai úton előállított nZnO hatását tesztelték és hasonlították össze hagyományos antimikrobiális szerekkel, patogén baktériumokon (*Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*). Az állításuk szerint először végeztek ilyen vizsgálatot. A kísérletek során azt tapasztalták, hogy a biológiai úton előállított nZnO-nak a legmagasabb az antibakteriális hatása (1. táblázat), viszont ennek okát nem fejtették ki.

Baktérium közösségek vizsgálatára is végeztek tesztek. SHARMA és munkatársai (2010) telepszámlálós módszerrel tesztelték a nZnO hatását a baktériumközösségekre. Eredményeik alapján az nZnO jelentős mértékben gátolja a *Pseudomonas* fajok szaporodását. Fang és munkatársai (2013) nAl atommal adalékolt nZnO-dal kezelték a *Pseudomonas* fajokat. Az adalékolás során a ZnO kristályszerkezetébe épülnek be az Al atomok. A kísérletben az ezáltal megváltozott tulajdonságok (pl. kristályminőség) hatásait vizsgálták a baktérium fajokon. A nAl atommal adalékolás azonban nem változtatta meg a nZnO toxikus hatását ezekre a fajokra.

A másik gyakran tesztelt anyag a nTiO₂ (2. táblázat). Az anyag baktericidhatását vizes közegben, több kísérletben is bebizonyították már (BLOCK et al., 1997, ADAMS et al., 2006). BLOCK és munkatársai (1997) és ADAMS és munkatársai (2006) vizsgálatából kitűnik, hogy UV fény hiányában a nTiO₂ baktériumokra gyakorolt toxikus hatása csökken, ami módosíthatja a talajban, mint vizsgálati közegben végzett kísérletek eredményeit is.

SIMONIN és munkatársai (2015) a nTiO₂ nanorészecskék toxicitását vizsgálta a talaj mikrobiális közösségére többféle talajtípusban. A talajtípusokat úgy választották ki, hogy különféle textúrájuk és szerves anyag tartalmuk legyen. A különböző textúrájú talajok a homokos-vályog, vályog és az iszapos-agyag. A nTiO₂ hatását 1–500 mg·kg⁻¹ koncentrációtartományban tesztelték. A legtöbb talajban a nanoanyagoknak nem volt hatása a baktériumok mennyiségére és a szén mineralizációra, kivéve az iszapos-agyag fizikai féleségű talaj esetében (magas szerves anyag tartalom mellett). Ebben a talajban már a legkisebb nTiO₂ koncentrációnál is csökkent a szén mineralizációja. Az eredményekből arra következtettek, hogy a nTiO₂ toxicitása a talaj pH-tól, iszap-agyag mennyiségétől és szerves anyag tartalmától függ. További kísérletek során kiderült, hogy az iszapos-agyagos talajban kevésbé tudott aggregálódni a nTiO₂.

A rizsföldek talajában vizsgált nTiO₂-nak is bakteriosztatikus hatása volt a talaj mikroba közösségére (XU et al., 2015). XU és munkatársai (2015) szerint a vízzel elárasztott rizsföldekben élő mikroba közösségek kevésbé érzékenyek a nTiO₂-re, mint a száraz talajokban élők.

2. táblázat
Különböző szemcseméretű TiO₂, SiO₂ és Al₂O₃ fizikai és kémiai tulajdonságai, valamint toxicitása néhány talajbaktérium fajra

(1) Teszt fajok	(2) Anyag	(3) Anyag származása	(4) Részecske nagyság	(5) Koncentráció	(6) Hatás*	(7) Referencia
			nm	mg·l ⁻¹	%	
<i>A. Patogén fajok</i>						
<i>Bacillus cereus</i>	Al ₂ O ₃	Sigma-Aldrich	<50	1 000 5 000 10 000	nh	FAJARDO et al., 2014
<i>Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria</i>	TiO ₂	kémiai úton előállított	30,6	NA	100 (M)	ZHANG et al., 2007
<i>B. Ökológiai szempontból kiemelt fajok</i>						
<i>Bacillus subtilis</i>	SiO ₂	Sigma Aldrich	20		40 (M)	
<i>B. subtilis</i>	TiO ₂ (sötétben)	Zhejiang H. M. T. C.	50	20	0 (M)	JIANG et al., 2009b
<i>B. subtilis</i>	Al ₂ O ₃	Zhejiang H. M. T. C.	60		57 (M)	
<i>B. subtilis</i>	SiO ₂	Sigma Aldrich	205	2000	84±9,9 (NG)	ADAMS et al., 2006
<i>B. subtilis</i>	TiO ₂	Sigma Aldrich	330		99±0,9 (NG)	
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	CuO	Sigma Aldrich	<100	200	100 (NG)	DIMKPA et al., 2011
<i>P. fluorescens</i>	SiO ₂	Sigma Aldrich	20		70 (M)	
<i>P. fluorescens</i>	TiO ₂ (sötétben)	Zhejiang H. M. T. C.	50	20	0 (M)	JIANG et al., 2009b
<i>P. fluorescens</i>	Al ₂ O ₃	Zhejiang H. M. T. C.	60		70 (M)	
<i>P. stutzeri</i>	Al ₂ O ₃	Sigma Aldrich	<50	1 000 5 000 10 000	nh	FAJARDO et al., 2014

Megjegyzés: *M: mortalitás, NG: növekedés gátlás; nh: nincs hatás; NA: nincs adat; A koncentrációknál azt az értéket tüntettük fel, amelynél a legnagyobb növekedésgátlást tapasztalták; Kivételt képeznek ez alól ADAMS és munkatársainak (2006) adatai, ahol az összehasonlíthatóság kedvéért 2 000 mg·l⁻¹ koncentrációt vettünk alapul mindkét anyagnál

Több szerves és szervetlen nanoanyag hatásának vizsgálata során a nTiO₂ fejtette ki a legnagyobb hatást a talajbaktérium közösségek összetételére (NOGUEIRA et al., 2012). JIANG és munkatársai (2009b) több fém-oxid és azok nagyszemcsés megfelelőinek vizsgálata során azt tapasztalta, hogy a vizsgált nTiO₂ (20 mg·l⁻¹ koncentrációnál) kevésbé volt toxikus, mint a nagyszemcsés változat (2. táblázat).

A nZnO és a nTiO₂ toxicitását több kísérletben is összehasonlították. Mindkét anyag csökkentette a mikrobák biomasszáját és diverzitását az alkalmazott dózisban, a nZnO hatása azonban erősebbnek bizonyult a nTiO₂ hatásánál (ADAMS et al., 2006; JIANG et al., 2009b; GE et al., 2011).

A nCuO talajbaktériumokra gyakorolt hatását mind a nZnO (GAJJAR et al., 2009; DIMKPA et al., 2011; MARTINEAU et al., 2014), mind a nTiO₂ hatásával (XU et al., 2015) több kísérletben is összevetették. Minden vizsgálatban a nCuO bizonyult toxikusabbnak (2. táblázat). Az anyag toxicitása erősen függött a szemcsemérettől. DIMKPA és munkatársai (2011) megállapították, hogy 500 mg·l⁻¹ letális a nanoformából (<100 nm), viszont a nagyszemcsésnek ebben a koncentrációban nem volt hatása a vizsgált *P. chlororaphis* 06-ra.

MARTINEAU és munkatársai (2014) kísérletében azt vizsgálta, hogy a búza gyökeréből kinyert komponensekkel kezelt talajbaktérium, a *Pseudomonas putida* KT2440, képes-e hatékonyabban védekezni olyan fém-oxidok ellen, mint például a nZnO és a nCuO. Tapasztalataik alapján a gyökérből kinyert komponensek egyfelől táplálékai lehetnek más hasznos baktériumoknak, mint pl. a *Rhizobium* fajoknak is, másfelől megváltoztathatják a fémek bioaktivitását azáltal, hogy komplexeket képeznek a szabad fémionokkal. Sikerült kimutatniuk, hogy ezek az anyagok védelmet jelentenek a nanofémek ellen, amit aggregációval, a részecskéken képződő lehetséges bevonat képződésével és hatásával magyaráztak. Ezen változások csökkenthették a fémoxidok biológiai aktivitását úgy, hogy fizikailag megvédték a baktérium sejteket a nanorészecskék és az ionok bejutásától.

Egyéb fém-oxidok (pl.: SiO₂, Al₂O₃) talajbaktériumokra gyakorolt hatásaira vonatkozóan is végeztek vizsgálatokat (2. táblázat). ADAMS és munkatársai (2006) tesztjei során a *Bacillus subtilis* bizonyult a legérzékenyebbnek a fémoxid nanoanyagokra a vizsgált fajok közül. A kísérletekben a nZnO, a nTiO₂ és a nSiO₂ növekedés gátló hatását mérték össze, ezek közül a nSiO₂-nak volt a legkisebb toxikus hatása erre a fajra. JIANG és munkatársai (2009b) a fentebb említett nZnO-on, nTiO₂-on kívül, a nSiO₂-t és a nAl₂O₃ hatását is tesztelte három fajon, amelyből kettő volt talajban élő: a *Bacillus subtilis* és a *Pseudomonas fluorescens*. Eredményeik szerint a nAl₂O₃ és a nSiO₂ a *P. fluorescens*-re fejtette ki a legtoxikusabb hatást (2. táblázat). PAWLETT és munkatársai (2013) olyan szemcsés vas (nZVI – *nano Zero Valent Iron*) hatását nézte a talaj mikroba összetételére, amit általában talajremediáció során használnak. A nZVI hatása függött a talaj szerves anyag tartalmától, viszont a textúrájától nem. Ez az anyag szignifikánsan (29%-os mértékben) csökkentette a talaj mikrobiális biomasszáját, de csak olyan esetben, ahol 5% szalmát adtak a talajhoz. Érdekes módon 0% és 10% szalma hozzáadásnál semmilyen hatást nem tapasztalt. A tanulmány szerint a nZVI-re a Gram-negatív baktériumok érzékenyek és ez okozhatta a biomassza csökkenést.

Fém-oxidok hatásai a talajban élő mikroszkopikus gombákra

A gombák (*Fungi*) az élővilág egy önálló országát („Regnum”) alkotják. Olyan többsejtű eukarióta szervezetek, amelyek szintesttel nem rendelkeznek és kész, szerves anyagokból heterotróf módon táplálkoznak. Befolyásolják a talaj-növény-légkör szénkörforgalmát, részt vesznek a növények táplálkozásában és túlélésében, a talaj szerkezetének kialakításában és a szerves anyagok lebontásában is (SEBŐK et al., 2013).

A gombák országán belül három fő csoportot különíthetünk el. Az első csoport, a lebontók, a talajba került holt szerves anyagot alakítják át saját felhasználású táplálékká, szén-dioxiddá és szerves savakká (ABBOTT & MURPHY, 2003). A gombák képesek lebontani a cellulózt, a fehérjét és a lignint. A második csoportba a mutualista életmódúak tartoznak. Ezek a fajok növények gyökérzetével alakítanak ki kölcsönösen előnyös kapcsolatot. Ide tartoznak a mikorrhiza gomba fajok. Több mikorrhiza csoportot is ismerünk: arbuskuláris, ektomikorrhiza, erikoid és orchid. A harmadik csoport a patogén gombák, mint pl.: *Verticillium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* és a *Pythium* fajok (ABBOTT & MURPHY, 2003).

A fémoxidok a talajban élő mikroszkopikus gombákra gyakorolt hatására számottevően kevesebb vizsgálat született, mint a különböző baktérium fajokra (3. táblázat). A talajban élő gombák esetében főként a nanoméretű ZnO és TiO₂ anyagok hatását tesztelték. WANI és SHAH (2012) több patogén gombafajt vizsgált, de ebből csak kettő található meg a talajban, a *Fusarium oxysporum* és a *Mucor plumbeus*. Bár eredeti környezetében, a talajban a *F. oxysporum* inkább a növényekkel pozitív endofita kapcsolatot létesít vagy szaprofitaként működik, mégis a patogén gombák közé sorolhatjuk, mert a mezőgazdasági növénytermesztésben több törzse is növénykórokozóként lép fel.

A *M. plumbeus* a humán immunfolyamatokat befolyásolhatja. WANI és SHAH (2012) a kísérletben nZnO e fajokra gyakorolt hatását mérték össze nMgO hatásával. Mindkét fajnál a nZnO kezelés kisebb mértékű gátlást idézett elő a spórák csírázásában, mint a nMgO kezelés. Az általuk használt legmagasabb koncentrációnál a nZnO a *M. plumbeus*-ra volt toxikusabb, a gátlás ebben az esetben 31,64% volt (3. táblázat).

Más patogén, talajban élő fajokkal (*Aspergillus flavus*, *Trichoderma harzianum*) végeztek toxicitás vizsgálatokat GUNALAN és munkatársai (2012). Az *A. flavus* szaprofitita és növény patogén gombafaj, valamint mikotoxinok termelése révén is fontos élelmiszer- és takarmánybiztonsági kockázati tényező lehet. A *T. harzianum*-ot viszont más patogén gombafajok ellen használják fel napjaink mezőgazdasági gyakorlatában (ELAD et al., 1980; MONTE & LLOBELL 2003) és növényi kártevő fonálférgék ellen is bizonyították a hatékonyságát (DARAGÓ et al., 2013). GUNALAN és munkatársai (2012) kísérleteiben a természetes és a kémiai úton előállított ZnO gombákra gyakorolt hatását vetették össze. A baktériumokkal végzett kísérletük eredményéhez hasonlóan, itt is a természetes úton előállított nZnO bizonyult toxikusabbnak. A két gombafaj közül az *A. flavus* volt érzékenyebb a fémoxid nanoanyagokra (3. táblázat).

3. táblázat

Különböző szemcseméretű fém-oxidok fizikai és kémiai tulajdonságai, valamint toxicitása egyes talajban élő mikroszkopikus gomba fajokra

Teszt fajok	Anyag	Anyag származása	Részecske nagyság	Koncentráció	Hatás*	Referencia
			nm		%	
<i>A. Patogén/Növénypatogén fajok</i>						
<i>Aspergillus flavus</i>	ZnO	kémiai úton előállított	25	17,5 mM	100 (NG)	GUNALAN et al., 2012
		biológiai úton előállított	40	17 mM		
<i>A. flavus</i>	ZnO	biológiai úton előállított	57,72	25 mg·l ⁻¹	19±1 (NG)	JAYASEELAN et al., 2012
<i>Fusarium oxysporum</i>	ZnO	kémiai úton előállított	30±10	0,5 ml	42,61 (NG)	WANI et al., 2012
<i>Fusarium sp.</i>	ZnO	kémiai úton előállított	32 (felületaktív anyag nélkül)	100 mM	20 (NG)	SHARMA et al., 2010
			35 (mikrohullámú sugárzás alatt)		12,5 (NG)	
			35 (szoba-hőmérsékleten)		12,5 (NG)	
<i>Penicillium expansum</i>	ZnO	Alfa Aesar	70±15 nm	96 mg·l ⁻¹	61–91 (NG)	HE et al., 2011
<i>B. Patogén/humánpatogén fajok</i>						
<i>Mucor plumbeus</i>	ZnO	kémiai úton előállított	30±10	0,5 ml	31,64 (NG)	WANI et al., 2012
<i>C. Fungicid fajok</i>						
<i>Trichoderma harzianum</i>	ZnO	kémiai úton előállított	25	20,4 mM	100 (NG)	GUNALAN et al., 2012
		biológiai úton előállított	40	19,2 mM		
<i>D. Mutualista fajok</i>						
AM-gomba fajok ***	FeO	kémiai úton előállított	10,2±2,6	3,2 mg·kg ⁻¹	34**	FENG et al., 2013
AM-gomba fajok****	TiO ₂	Sigma-Aldrich	28	1 000 mg·kg ⁻¹	nh	KLINGENFUSS, 2014
		Sachtleben Chemie	91	1 000 mg·kg ⁻¹	nh	

Megjegyzés: *M: mortalitás, NG: növekedés gátlás; nh: nincs hatás ** a mikorrhizált biomasszát csökkentette; ****Trifolium repens* gazdanövény; *****Tricium spp.* gazdanövény; Koncentrációk, amelynél a szerzők a legnagyobb növekedésgátlást tapasztalták

A nZnO fungicid hatását SHARMA és munkatársai (2010), HE és munkatársai (2011), illetve JAYASEELAN és munkatársai (2012) is vizsgálta. SHARMA és munkatársai (2010) kísérletei során 12,5%-os növekedés gátlást tapasztalt szobahőmérsékleten *Fusarium sp.* tesztstruktúra esetében. A nZnO-ra a *Penicillium expansum* különösen érzékeny, HE és munkatársai (2011) kísérlete során 61–91%-os növekedésgátlást tapasztalt.

MARKOWSKA-SZCZUPAK és munkatársai (2010) nTiO₂-t tartalmazó festékek hatásait vizsgálta különböző gombafajok növekedésére. Az összes festéket a Pigment Building Chemistry gyártotta. A kísérleteket mind sötétben, mind természetes nappali fényben is elvégezték. Sötétben eléggé különböző módon reagáltak az eltérő gombafajok a különféle festékekre, de kimutatható volt az általános növekedésgátlás. A nappali fényben a festékek hatása jóval erősebb volt, az általuk okozott növekedésgátlás kifejezettebb lett. Ugyanakkor érdekes módon mindkét kísérletben volt olyan szer, amely gátlás helyett stimulálta bizonyos gomba fajok növekedését. Sötétben a KEIM Ecosil ME (magas anatóz érték) festék stimulálta az *Aspergillus niger* faj, a Silicate D festék pedig a *Trichoderma viride* növekedését. Ezzel ellentétben, világosban a KEIM Ecosil ME festék mutatta a legnagyobb antifungális aktivitást az összes fajra, a Silicate D pedig ebben az esetben az *Eurotium herbariorum* növekedését serkentette.

DHANALAKSHMI és munkatársai (2013) a nZnO és a nTiO₂ együttes hatását vizsgálta baktériumokon és talajban élő gombákon. A kísérletük során ez az összetett anyag antimikrobiális hatást mutatott az összes tesztfajra.

Az arbuskuláris mikorrhiza (AM) gomba fajok mindenütt jelen lehetnek a talajban és a növények több mint 90%-ával vannak kapcsolatban. Javítják a növények víz- és tápanyag (főleg foszfor és mikroelem) felvételét, a jelenlétükben a növények könnyebben ellenállnak a nehézfém okozta káros hatásoknak, javítják a talaj szerkezetét, megvédhetik a növényeket a patogénektől és visszafoghatják az agresszív növekedésű gyomfajokat is (SERES & BAKONYI 2002; SERES et al., 2003; HERNÁDI et al., 2012).

FENG és munkatársai (2013) kísérletében nanoszemcsés (10,2±2,6 nm) és nagyszemcsés FeO hatásait vizsgálták AM gombával beoltott *Trifolium repens* növényekre. A kísérlet során a nagyszemcsés anyagnak sem a földfeletti, sem a földalatti biomasszára nem volt hatása, ezzel ellentétben a nFeO mindkettőre szignifikáns növekedésgátlást mutatott. Ehhez hasonlóan változott a növény gyökerein mérhető mikorrhizáltság mértéke is a beoltás után. A nagyszemcsés FeO nem befolyásolta azt, a nFeO magasabb koncentrációjánál azonban szignifikánsan kisebb AM gomba kolonizációt és alacsonyabb P-tartalmat mértek a növények gyökereiben. Az AM gombákat nTiO₂-dal is tesztelték. Ezekben a tesztekben meglehetősen eltérő eredmények születtek (3. táblázat).

DUBCHAK és munkatársai (2010) AM gombával beoltott napraforgót (*Helianthus annuus*) tesztelt és a nTiO₂ kolonizációt csökkentő hatását tapasztalta. Ezzel ellentétben KLINGENFUSS (2014) kísérletében a nTiO₂ nem befolyásolta negatívan az AM gombával beoltott búza gyökerein mérhető gomba kolonizációt. A kísérletek eredményeinek különbségei valószínűleg visszavezethetők a tesztek során alkalmazott gazdanövények közötti jelentős különbségekre is.

Összefoglalás

Ebben az összefoglaló cikkben bemutatjuk, hogy a ma már széleskörűen alkalmazott nanoméretű fém-oxidok milyen hatással lehetnek a talajban élő mikroorganizmusokra. A nanoméretű fém-oxidok felhasználásuk során közvetlenül és közvetetten is bekerülhetnek a talajba.

A leginkább alkalmazott és ezért környezeti kockázat szempontjából is leggyakrabban vizsgált fém-oxidok a $n\text{ZnO}$, a $n\text{TiO}_2$, a $n\text{SiO}_2$, az $n\text{Al}_2\text{O}_3$ és a $n\text{CuO}$. A nanoanyagokat alkalmazhatják a mezőgazdaságban is, elsősorban növényvédelmi célból. A félvezető fém-oxidokat a peszticidek lebontására is használhatják a fotokatailitikus tulajdonságuk miatt.

A talajbaktériumokra kifejtett hatásokat számos közlemény vizsgálja. Jelentőségük nagy, mivel alapját képezik a táplálékhálózatnak és az elsődleges szereplői a globális biogeokémiai körforgalmaknak. A táplálékláncban betöltött helyzetük miatt szerepük lehet a fém-oxidok felhalmozódásában is, tehát mindenképp jól alkalmazhatóak tesztorganizm-ként toxikológiai vagy ökotoxikológiai vizsgálatokban. A kísérletek nagyon különböző eredményeket hozhatnak függően a tesztfajtól, a használt módszertől, illetve az anyag kémiai összetételétől, mivel a nanoanyagok vizsgálatára még nem születtek egységes tesztszabványok.

A vizsgált fém-oxidok általában a baktériumok közösségének összetételére és diverzitására gyakorolnak hatást. A $n\text{ZnO}$ bakteriosztatikus hatást fejt ki vizsgált baktérium fajokra, a legtöbb kísérletben erősebb hatása volt, mint nagyszemcsés megfelelőjének ugyanabban a koncentráció tartományban.

A $n\text{TiO}_2$ hatását egyes irodalmi adatok szerint az UV fény jelenléte befolyásolta, ennek hiányában csökken az anyag toxicitása. Ezen felül a $n\text{TiO}_2$ hatása a talaj pH-jától és szerves anyag tartalmától is függ. A titán-dioxid is bakteriosztatikus hatást fejt ki a baktérium közösségekre. A két anyag közül azonos koncentrációban alkalmazva a $n\text{ZnO}$ toxikusabb. A $n\text{CuO}$ ugyanakkor mind a $n\text{ZnO}$ -nál, mind a $n\text{TiO}_2$ -nál toxikusabbnak bizonyult a kísérletek alapján.

A talajban élő mikroszkopikus gombafajoknál nem egyértelmű a nanoszemcsés anyagok hatása, a tesztfajok különböző érzékenysége és a módszertani eltérések miatt az eredmények különbözőek. A $n\text{ZnO}$ -ra a legérzékenyebb faj a *Penicillium expansum*, 61–91%-os növekedés gátlással. Az arbuskuláris mikorrhiza fajoknál a nagyobb dózisban ($3,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) adott $n\text{FeO}$ szignifikáns kolonizáció csökkenést okoz.

Az eddigi kutatási eredmények alapján megállapítható, hogy a talaj mikroorganizmusait nagyrészt negatívan befolyásolják a nanoméretű fém-oxidok és egyértelműen toxikusak is lehetnek a különböző baktérium- és gombafajokra. Mindenképp érdemes azonban vizsgálni a talaj mikro-, mezo- és makrofaunájára gyakorolt hatásokat is, hogy ezeken keresztül teljes képet kapjunk a nanoméretű fém-oxidoknak a talaj közösségekre kifejtett toxicitásáról.

A nanoanyagok talajba jutó mennyisége előreláthatólag növekszik majd a jövőben, tekintettel arra, hogy ezek előállítására és felhasználására egy dinamikus fejlődő ágazat. Mivel a nanoanyagok nem kizárólag a szennyvizekből és hulladékból kerülhetnek a környezetbe, hanem közvetlen mezőgazdasági felhasználás révén is, fontos

tudnunk, hogy milyen káros hatásokkal kell számolnunk, végső soron ezek a folyamatok közvetett módon az ember jólétét, a környezet és az élelmiszerlánc biztonságát is befolyásolhatják.

Kulcsszavak: nanoméretű fém-oxidok, cink-oxid, titán-dioxid, baktérium, mikroszkopikus gomba

Irodalom

- ABBOTT, L. K. & MURPHY, D.V., 2003. Soil Biological Fertility: A Key to Sustainable Land Use in Agriculture. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- ADAMS, L. K., LYON, D. Y. & ALVAREZ P. J. J., 2006. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Research*. **40**. 3527–3532.
- BAKONYI G., 2014. Nanotechnológia a mezőgazdaságban. *Biokultúra*. **6**. 23–27.
- BAKONYI G., SERES A., RÉPÁSI V., JURIKOVÁ T., SZEKERES L. & BALLA I., 2009. Új irányok a talajállatok ökotoxikológiájában. *Állattani Közlemények*. **94**. 3–17.
- BANDYOPADHYAY, S., PLASCENCIA-VILLA, G., MUKHERJEE, A., RICO, C. M., JOSÉ-YACAMÁN, M., PERALTA-VIDEA, J. R. & GARDEA-TORRESDEY, J. L., 2015. Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zinc onto the alfalfa plants symbiotically associated with *Sinorhizobium meliloti* in soil. *Science of the Total Environment*. **515–516**. 60–69.
- BARUAH, S. & DUTTA, J., 2009. Nanotechnology applications in pollution sensing and degradation in agriculture: A review. *Environmental Chemistry Letters*. **7**. 191–204.
- BIRÓ, B., POSTA, K., FÜZY, A., KÁDÁR, I. & NÉMETH, T., 2005. Mycorrhizal functioning as part of the survival mechanisms of barley at long-term heavy metal stress. *Acta Biologica Szegediensis*. **49**. 65–68.
- BLOCK, S. S., SENG, V. P. & GOSWAMI, D. Y., 1997. Chemically enhanced sunlight for killing bacteria. *Journal of Solar Energy Engineering*. **119**. 85–91.
- BOUR, A., MOUCHET, F., SILVESTRE, J., GAUTHIER, L. & PINELLI, E., 2015. Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: A review. *Journal of Hazardous Materials*. **283**. 764–777.
- CHANG, Y.-N., ZHANG, M., XIA, L., ZHANG, J. & XING, G., 2012. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials*. **5**. 2850–2871.
- CHEN, H. & YADA, R., 2011. Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. *Trends in Food Science & Technology*. **22**. 585–594.
- DARAGÓ, Á., SZABÓ, M., HRÁCS, K., TAKÁCS, A. & NAGY, P., 2013. In vitro investigations on the biological control of *Xiphinema index* with *Trichoderma* species. *Helminthologia*. **50**. 132–137.
- DHANALAKSHMI, R., PANDIKUMAR, A., SUJATHA, K. & GUNASEKARAN, P., 2013. Photocatalytic and antimicrobial activities of functionalized silicate sol-gel embedded ZnO–TiO₂ nanocomposite materials. *Materials Express*. **3**. (4) 291–300.

- DIMKPA, C. O., CALDER, A., BRITT, D. W., MCLEAN, J. E. & ANDERSON, A. J., 2011. Responses of a soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O6 to commercial metal oxide nanoparticles compared with responses to metal ions. *Environmental Pollution*. **159**. 1749–1756.
- DUBCHAK, S., OGAR, A., MIETELSKI J. W. & TURNAU, K., 2010. Influence of silver and titanium nanoparticles on arbuscular mycorrhiza colonization and accumulation of radiocaesium in *Helianthus annuus*. *Spanish Journal of Agricultural Research*. **8**. (S1) S103–S108.
- ELAD, Y., CHET, I. & KATAN, J., 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoclonia solani*. *Phytopathology*. **70**. 119–121.
- FAJARDO, C., SACCÀ, M. L., COSTA, G., NANDE, M. & MARTIN, M., 2014. Impact of Ag and Al₂O₃ nanoparticles on soil organisms: In vitro and soil experiments. *Science of the Total Environment*. **473–474**. 254–261.
- FANG, T., WATSON, J.-L., GOODMAN, J., DIMKPA, C. O., MARTINEAU, N., DAS, S., MCLEAN, J. E., BRITT, D.W. & ANDERSON, A. J., 2013. Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonads? *Microbiological Research*. **168**. 91–98.
- FENG, Y., CUI, X., HE, S., DONG, G., CHEN, M., WANG, J. & LIN, X., 2013. The Role of Metal nanoparticles in influencing arbuscular mycorrhizal fungi effects on plant growth. *Environmental Science & Technology*. **47**. 9496–9504.
- GAJJAR, P., PETTEE, B., BRITT, D. W., HUANG, W., JOHNSON, W. P. & ANDERSON, A. J., 2009. Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440. *Journal of Biological Engineering*. **3**. 1183–1189.
- GE, Y., SCHIMMEL, Y. P. & HOLDEN, P. A., 2011. Evidence for negative effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities. *Environmental Science & Technology*. **45**. 1659–1664.
- GILÁNYI T., 2005. Kolloidkémia: Nanorendszerek és határfelületek. Egyetemi jegyzet. Eötvös Lóránd Tudomány Egyetem, Kolloidkémiai és Kolloidtechnológiai Tanszék. Budapest.
- GODWIN, H. A., CHOPRA, K., BRADLEY, K. A. & COHEN, Y., 2009. The University of California Center for the environmental implications of nanotechnology. *Environmental Science & Technology*. **43**. 6453–6457.
- GONDIKAS, A. P., VON DER KAMMER, F., REED, R. B., WAGNER, S., RANVILLE J. F. & HOFMANN, T., 2014. Release of TiO₂ nanoparticles from sunscreens into surface waters: a one-year survey at the old Danube recreational Lake. *Environmental Science & Technology*. **48**. 5415–5422.
- GUNALAN, S., SIVARA, R. & RAJENDRAN, V., 2012. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Natural Science: Materials International*. **22**. 693–700.
- HE, L., LIU, Y., MUSTAPHA, A. & LIN, M., 2011. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research*. **166**. 207–215.
- HERNÁDI I., MAGURNO F., SASVÁRI Z. & POSTA K., 2012. Mikorrhiza oltóanyag hatása két fűszerpaprika termesztésére és a helyi arbuszkuláris mikorrhiza gombaközösségre. *Tájékológiai Lapok*. **10**. (2) 305–313.

- JAYASEELAN, C., ABDUL RAHUMAN, A., VISHNU KIRTHI, A., MARIMUTHU, S., SANTHOSHKUMAR, T., BAGAVAN, A., GAURAV, K., KARTHIK, L. & BHASKARA RAO, K. V., 2012. Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectrochimica Acta Part A*. **90**. 78–84.
- JIANG, J., OBERDÖRSTER, G.; BISWAS, P., 2009a. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *Journal of Nanoparticle Research*. **11**. 77–89.
- JIANG, W., MASHAYEKHI, H. & XING, B., 2009b. Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. *Environmental Pollution*. **157**. 1619–1625.
- JIANG, X., HERRICKS, T. & XIA, Y., 2002. CuO nanowires can be synthesized by heating copper substrates in air. *Nano Letters*. **2**. 1333–1338.
- KAHRU, A. & DUBOURGUIER, H.-C., 2009. From ecotoxicology to nano ecotoxicology. *Toxicology*. **269**. 105–119.
- KAHRU, A., DUBOURGUIER, H.-C., BLINOVA, I., IVASK, A. & KASEMETS, K., 2008. Biotests and Biosensors for Ecotoxicology of Metal Oxide Nanoparticles: A Minireview. *Sensors*. **8**. 5153–5170.
- KHOT, L. R., SANKARAN, S., MAJA, J. M., EHSANI, R. & SCHUSTER, E. W., 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protection*. **35**. 64–70.
- KISS, L. V., HRÁCS K., NAGY P. I. & SERES A., 2015. Különböző szemcseméretű cink-oxid hatása talajlakó ugróvillás és fonálféreg testszervezetekre. *Állattani Közlemények*. **100**. (1–2) 77–88.
- KLINGENFUSS, F., 2014. Testing of TiO₂ nanoparticles on wheat and microorganisms in a soil microcosm. University of Gothenburg, Department of biology and environmental sciences. Göteborg.
- KUCHIBHATLA, S. V. N. T., KARAKOTI, A. S., BERA, D. & SEAL, S., 2006. One dimensional nanostructured materials. *Materials Science*. **52**. 699–913.
- LAL, R., 2007. Soil science and the carbon civilization. *Soil Science Society of America Journal*. **71**. 1425–1437.
- LAZARO, A., QUERCIA, G., BROUWERS, H. J. H. J. & GEUS, W., 2013. Synthesis of a Green Nano-Silica Material Using Beneficiated Waste Dunites and Its Application in Concrete. *World Journal of Nano Science and Engineering*. **3**. 41–51.
- LEE, J., LIM, G. & CHUNG, H., 2007. Nanoparticles for Crossing Biological Membranes. In: *Nanotechnologies for the life science*. Volume 2: Biological and Pharmaceutical Nanomaterials. (Ed.: KUMAR, C. S. S. R.) Wiley-VCH. Germany.
- MA, H., WILLIAMS, P. L. & DIAMOND, S. A., 2013. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles: A review. *Environmental Pollution*. **172**. 76–85.
- MARKOWSKA-SZCZUPAK, A., ULFIG, K., GRZMIL, B. & MORAWSKI, A. W., 2010. A preliminary study on antifungal effect of TiO₂-based paints in natural indoor light. *Polish Journal of Chemical Technology*. **12**. 53–57.
- MARTINEAU, N., MCLEAN, J. E., DIMKPA, C. O., BRITT, D. W. & ANDERSON, A. J., 2014. Components from wheat roots modify the bioactivity of ZnO and CuO nanoparticles in a soil bacterium. *Environmental Pollution*. **187**. 65–72.

- MOHAPATRA, M. & ANAND, S., 2010. Synthesis and applications of nano-structured iron oxides/hydroxides – a review. *International Journal of Engineering, Science and Technology*. **2**. (8) 127–146.
- MONTE, E. & LLOBELL, A., 2003. Trichoderma in organic agriculture. V. World Avocado Congress. Málaga, Spain. 19–24 October. 725–733.
- NEL, A. E., MÄDLER, L., VELEGOL, D., XIA, T., HOEK, E. M., SOMASUNDARAN, P., KLAESSIG, F., CASTRANOVA, V. & THOMPSON, M., 2009. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials*. **8**. 543–557.
- NOGUEIRA, V., LOPES, I., ROCHA-SANTOS, T., SANTOS, A. L., RASTEIRO, G. M., ANTUNES, F., GONÇALVES, F., SOARES, A. M. V. M., CUNHA, A., ALMEIDA, A., GOMES, N. N. C. M. & PEREIRA, R., 2012. Impact of organic and inorganic nanomaterials in the soil microbial community structure. *Science of the Total Environment*. **424**. 344–350.
- OBERDÖRSTER, G., MAYNARD, A., DONALDSON, K., CASTRANOVA, V., FITZPATRICK, J., AUSMAN, K., CARTER, J., KARN, B., KREYLING, W., LAI, D., OLIN, S., MONTEIRO-RIVIERE, N., WARHEIT, D., YANG, H. & A REPORT FROM THE ILSI RESEARCH FOUNDATION/RISK SCIENCE INSTITUTE NANOMATERIAL TOXICITY SCREENING WORKING GROUP, 2005. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology*. **2**. 8.
- PÁNDICS T., 2008. A nanorészecskék környezetegészségügyi hatásainak elemzése. *Egészségtudomány*. **52**. (3) 5–20.
- PAWLETT, M., RITZ, K., DOREY, R. A., ROCKS, S., RAMSDEN, J. & HARRIS, J. A., 2013. The impact of Zero-valent Iron Nanoparticles upon soil microbial communities is context dependent. *Environmental Science and Pollution Research*. **20**. 1041–1049.
- PETERSEN, E. J., 2015. Control experiments to avoid artifacts and misinterpretations in nanoecotoxicology testing. *Special Publication (NIST SP)*–1200–11.
- SCHAUMANN, G. E., PHILIPPE, A., BUNDSCHUH, M., METREVELI, G., KLITZKE, S., RAKCHEEV, D., GRÜN, A., KUMAHOR, S. K., KÜHN, M., BAUMANN, T., LANG, F., MANZ, W., SCHULZ, R. & VOGEL, H.-J., 2015. Understanding the fate and biological effects of Ag- and TiO₂-nanoparticles in the environment: The quest for advanced analytics and interdisciplinary concepts. *Science of the Total Environment*. **535**. 3–19.
- SEBŐK F., DOBOLYI C., MAGYAR D., BOBVOS J., SZOBOSZLAY S. & KRISZT B., 2013. Komposztálótelepek levegőjének termofil gomba tartalma. *Egészségtudomány*. **57**. (4) 37–54.
- SERES A. & BAKONYI G., 2002. A talajlakó állatok és az endomikorrhiza-gombák közötti kapcsolatok szerepe a növények tápanyagellátásában. *Agrokémia és Talajtan*. **51**. 535–546.
- SERES A., BAKONYI G. & POSTA K., 2003. Ugróvillások (Collembola) szerepe a *Glomus mosseae* (Zygomycetes) arbuskuláris mikorrhiza gomba terjesztésében. *Állattani Közlemények*. **88**. 61–71.
- SHARMA, D., RAJPUT, J., KAITH, B.S., KAUR, M. & SHARMA, S., 2010. Synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antibacterial and antifungal properties. *Thin Solid Films*. **519**. 1224–1229.

- SIMONIN, M., GUYONNET, J. P., MARTINS, J. M. F., GINOT, M. & RICHAUME A., 2015. Influence of soil properties on the toxicity of TiO₂ nanoparticles on carbon mineralization and bacterial abundance. *Journal of Hazardous Materials*. **283**. 529–535.
- SUN, P., ZHANG, K., FANG, J., LIN, D., WANG, M. & HAN, J., 2015. Transport of TiO₂ nanoparticles in soil in the presence of surfactants. *Science of the Total Environment*. **527–528**. 420–428.
- SZÉCSY O., UZINGER N., VILLÁNYI I., SZILI-KOVÁCS T. & ANTON A., 2011. Összefüggések a króm, az ólom és a cink különböző kioldási frakciói, illetve egyes talajmikrobiológiai és -biokémiai mutatók között lignittel kezelt nyírségi homoktalajon. *Agrokémia és Talajtan*. **60**. (2) 383–396.
- TAKÁCS, T. & VÖRÖS, I., 2003. Effect of metal non-adapted arbuscular mycorrhizal fungi on Cd, Ni and Zn uptake by ryegrass. *Acta Agronomica Hungarica*. **51**. (3) 347–354.
- VÖRÖS, I., BIRÓ, B., TAKÁCS, T., KÖVES-PÉCHY, K. & BUJTÁS, K., 1998. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal toxicity to *Trifolium pratense* in soils contaminated with Cd, Zn and Ni salts. *Agrokémia és Talajtan*. **47**. (1–4) 277–288.
- WANI, A. H. & SHAH, M. A., 2012. A unique and profound effect of MgO and ZnO nanoparticles on some plant pathogenic fungi. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **2**. (03) 40–44.
- XIA, T., ROME, L. & NEL, A., 2008. Nanobiology: Particles slip cell security. *Nature Materials*. **7**. 519–520.
- XU, C., PENG, C., SUN, L., ZHANG, S., HUANG, H., CHEN, Y. & SHI, J., 2015. Distinctive effects of TiO₂ and CuO nanoparticles on soil microbes and their community structures in flooded paddy soil. *Soil Biology & Biochemistry*. **86**. 24–33.
- ZHANG, P., CUI, H., ZHONG, X. & LI, L., 2007. Effects of nano-TiO₂ semiconductor sol on prevention from plant diseases. *Nanoscience*. **12**. 1–6.
- ZHENG, L.-Y., LAU, K.-T., ZHAO, L.-X., ZHANG, Y.-Q. & HUI, D., 2009. Mechanical and thermal properties of nano-Al₂O₃/Nylon 6 composites. *Chemical Engineering Communications*. **197**. 343–351.

Érkezett: 2016. február 2.

**Toxic effects of nanosized metal oxides on soil-borne microorganisms
with particular ecological importance
– A review –**

L. V. KISS, K. HRÁCS, P. I. NAGY and A. SERES

Department of Zoology and Animal Ecology, Szent István University, Gödöllő

Summary

This review discusses the effect exerted on soil-borne microorganisms by nano-sized metal oxides, which are now widely used. These compounds may enter the soil both directly and indirectly.

The metal oxides which are most frequently used and therefore receive the greatest attention are ZnO, TiO₂, SiO₂, Al₂O₃ and CuO. Nanomaterials have various applications in agriculture, especially in plant protection. Semiconducting metal oxides can be used for pesticide degradation, due to their photocatalytic properties.

The effects of nanomaterials on soil bacteria are well documented. Bacteria are of great importance as they are part of the food chain and have a primary role in the global biogeochemical cycle. Due to their position in the food chain they may be involved in the accumulation of metal oxides and are therefore suitable test organisms for toxicological or ecotoxicological analysis. Experiments may result in very different findings depending on the test species, the methods employed and the chemical composition of the materials applied, since no generally accepted guidelines have yet been compiled to test the effects of nanomaterials.

The metal oxides tested mainly affected the composition and diversity of the bacterial community. Nano ZnO exhibited a bacteriostatic effect on the bacterial species tested, and in most of the tests it proved more toxic than the same concentration of the larger particle form.

Some authors reported that the effect of nano TiO₂ was influenced by the presence of UV light, in the absence of which the material was less toxic. The toxicity of this compound also depended on the soil pH and organic matter content. Nano TiO₂ also exhibited a bacteriostatic effect on the bacterial communities tested, though nano ZnO was more toxic than the same concentration of nano TiO₂. However, nano CuO proved to be the most toxic of the three compounds.

The effect of nanoparticles on soil-borne microscopic fungal species is not clear due to the different sensitivity of the test species and to differences in the methods applied. *Penicillium expansum* was the most sensitive to nano ZnO, exhibiting growth inhibition of 61–91%. The highest dose of nano FeO (3.2 mg·kg⁻¹) caused a significant reduction in the colonization by AMF species.

It can be concluded that in most cases nanosized metal oxides have a negative effect on soil microorganisms and may be exceptionally toxic to various bacterial and fungal species. However, it would be worth analysing their overall effect on the micro-, meso- and macrofauna of the soil in order to obtain a wider picture of the toxicity of nanosized metal oxides on soil communities. The quantity of nanomaterials entering the soil is likely to increase in the future as a result of dynamic developments in their production

and application. Nanomaterials may enter the soil not only in wastewater and solid wastes, but also as a result of agricultural application. Therefore, it is important to know what adverse effect they may have on soil organisms, since in the long run these processes have an indirect effect on the environment and food safety as well as human health and well-being.

Table 1. Physical and chemical properties of different particle-sized zinc oxide and its toxic effects on soil bacteria (concentrations causing the greatest growth inhibition are shown). (1) Test species. (2) Origin of the material. (3) Particle size, nm. (4) Concentration. (5) Effect. (6) Reference. A. Pathogenic species. B. Species of outstanding ecological importance. *Remarks:* M: Mortality; NG; Growth inhibition.

Table 2. Physical and chemical properties of different particle-sized TiO₂, SiO₂ and Al₂O₃ and their toxic effects on soil bacteria (concentrations causing the greatest growth inhibition are shown, except in the case of ADAMS et al. (2006), where a concentration of 2 000 mg·l⁻¹ was used for the purposes of comparison). (1) Test species. (2) Material. (3) Origin of the material. (4) Particle size, nm. (5) Concentration. (6) Effect. (7) Reference. A. Pathogenic species. B. Species of outstanding ecological importance. *Remarks:* M: Mortality; NG: Growth inhibition; nh: No effect; NA: no data.

Table 3. Physical and chemical properties of different particle-sized metal oxides and their toxic effects on soil-borne microscopic fungal species (concentrations causing the greatest growth inhibition are shown). (1) Test species. (2) Material. (3) Origin of the material. (4) Particle size, nm. (5) Concentration. (6) Effect. (7) Reference. A. Pathogenic/Plant-pathogenic species. B. Human-pathogenic species. C. Fungicidal species. D. Mutualistic species. *Remarks:* *M: Mortality; NG: Growth inhibition; nh: No effect. Growth inhibition; ** Reduced the mycorrhizal biomass by 34%; *** Host plant: *Trifolium repens*; ****Host plant: *Triticum spp.*