

**PANNON EGYETEM
GEORGIKON KAR
ÁLLAT- ÉS AGRÁRKÖRNYEZET-TUDOMÁNYI DOKTORI
ISKOLA**

**Iskolavezető:
Dr. habil. Anda Angéla
az MTA doktora**

**Témavezető:
Dr. habil. Várnagy László
az MTA doktora**

**KÖRNYEZETSZENNYEZŐ
NEHÉZFÉMEK (RÉZ, KADMIUM) ÉS
HERBICIDEK (DUAL GOLD 960 EC,
STOMP 330 EC) EGYEDI ÉS EGYÜTTES
TOXICITÁSA HÁZITYÚK-EMBRIÓKON**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Készítette:
SZABÓ RITA**

**KESZTHELY
2009**

TARTALOMJEGYZÉK

1. TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYEK	2
2. KUTATÁSI CÉLOK	5
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	6
3. 1. VIZSGÁLATI ANYAGOK	6
3. 1. 1. GYOMIRTÓ SZEREK	6
3. 1. 2. NEHÉZFÉMEK	6
3. 2. ALKALMAZOTT KONCENTRÁCIÓK	6
3. 3. KÍSÉRLETI ÁLLATOK	6
3. 4. KELTETÉS	7
3. 5. A KEZELÉSEK IDŐPONTJA ÉS MÓDJA	7
3. 6. FELDOLGOZÁS	8
3. 7. STATISZTIKAI VIZSGÁLAT	9
4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉS	10
4. 1. KORAI EMBRIONÁLIS FEJLŐDÉS	10
4. 2. KÓRBONCTANI FELDOLGOZÁS	10
4. 3. CSONTVÁZFESTÉSSEL TÖRTÉNT FELDOLGOZÁS	11
4. 4. SZÖVETTANI FELDOLGOZÁS	12
4. 5. FTIR ÉS FT-RAMAN SPEKTROSKÓPOS FELDOLGOZÁS EREDMÉNYE	12
4. 6. JAVASLATOK	12
5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	15
6. PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	16

1. TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYEK

Az emberiség létének és fejlődésének egyik alapja a mezőgazdasági tevékenység, amely az élelmiszer termelésén keresztül az emberi életműködés energiáit állítja elő. A kezdeti időszakban a mezőgazdaságot a talajhasznosítás alacsony színvonalából, továbbá a kezdetleges, primitív eszközök felhasználásából adódó alacsony termésátlagok jellemezték. A feudalizmus időszakában a helyzet alapvetően nem sokat változott, a természettudományok lassú fejlődése és a familiáris típusú iparosodás nem segítette elő a mezőgazdaság fejlődését. A kapitalizmus kialakulásával azonban gyökeresen megváltoztak a feltételek és a lehetőségek. Az élettudományok látványos előretörése, valamint az ipar megjelenése és folyamatos nyersanyagigénye nagymértékben hozzájárult a mezőgazdaság fejlődéséhez. A nagyobb termőképességű növényfajták, a gyomirtó és növényvédő szerek, valamint az automatizált gépek megjelenése mélyreható és alapvető változásokat eredményezett a termelésben. Az új eszközök és technológiák megjelenésének köszönhetően jelentősen nőttek a termésátlagok és javult a termésbiztonság (NYÍRI, 1993).

A peszticidek megjelenésével és széleskörű alkalmazásával az emberiség évekre – a rendszeresen megjelenő, valamint gyakran súlyos éhínséget és társadalmi válságot okozó károsítók és kártevők elleni hatásos védekezés – álma valósult meg. A vegyszeres védekezés és a növényvédő szerek gyártásának elengedhetetlen feltétele volt, hogy a kórokozók, kártevők és gyomnövények életmódja minél részletesebben feltárássá és megismerésre kerüljön. Ennek megfelelően valódi célzott és céltudatos védekezéssről a XIX. század második felétől beszélhetünk.

Napjainkban a mezőgazdasági termelésnek az élelmiszer előállításán túl fokozott figyelmet kell fordítani a meg nem újítható nyersanyagok energiatakarékos felhasználására, valamint az egész élővilágot érő környezetterhelés csökkentésére, illetve elkerülésére. Ezen sokrétű feladatok egyidejű megoldására az eddigi nagy mesterséges energiaigényű, erősen kemizált és elsősorban a tömegtermelést szem előtt tartó gazdálkodás kevésbé alkalmas. Ez a gazdálkodási forma a vizek és a talaj szennyezésével, a növény- és állatfajok veszélyeztetésével a környezet állapotát folyamatosan rontja, szennyezett termékeinek elfogyasztásával pedig jelentősen hozzájárul a népesség egészségi állapotának romlásához.

A mezőgazdasági termelésen belül a vegyszeres növényvédelem az egyik leginkább környezetszennyező terület. Óriási mennyiségben kerülnek ki a környezetünkbe olyan kémiai anyagok, amelyeknek a biológiai aktivitása ma még nem minden tekintetben ismert, annak ellenére, hogy a növényvédő szerek engedélyeztetési eljárása az elmúlt évtizedekben jelentős változáson ment keresztül. Elgondolkodtató, hogy miközben felmérések szerint a világon eddig mintegy 6 millió szintetikus anyag született, az IARC Nemzetközi Rákkutató Központ eddig mindössze 900 anyag alapos vizsgálatát tudta elvégezni és adott ki róluk bizonyítványt (ÁNGYÁN, 2003). A vizsgálatok során figyelmet kell fordítani a növényvédő szerek felhalmozódásának mértékére és bomlástermékeire a talajban, a vizek szennyeződésének terjedésére, valamint minden új vegyületnek a táplálékláncre kifejtett hatására.

A mezőgazdasági művelésbe vont területek táplálékforrást, búvó- és költőhelyet jelentenek vadmadarainknak. Azonban ez nagyfokú kockázatot hordoz magában, mert a kijuttatott növényvédő szerek veszélyt jelentenek számukra. A növényvédelmi munkák során kipermetezett szerek nemcsak a kifejlett madarakra, hanem a tojásban fejlődő embrióra is hatással lehetnek. A növényvédő szerrel kontaminált környezetben a peszticidek megváltoztatják a hasznos élőlények – a növényi, állati individuumok, populációk, életközösségek – kémiai környezetét és ezzel megteremtik a mérgezés lehetőségét. A peszticidek károsító hatása megnyilvánulhat az élőlények heveny károsodásában, enyhébb vagy kiterjedtebb pusztulásában. Az ivadékgondozó állatok elhullása miatt elpusztulhatnak a felügyelet, táplálék nélkül maradt, de egyébként nem mérgezett utódok is. A heveny mérgezést túlélő, de csökkent ellenálló képességűvé vált egyedek a különféle környezeti terhelések áldozatául eshetnek (VÁRNAGY és BUDAI, 1995).

A környezetkárosodás rohamos növekedése az egész társadalmat veszélyeztetheti, különösen azok a vegyületek, amelyek a talaj-növény-állat-ember táplálékláncban nyomon követhetőek. Az elfogyasztott táplálékkal az emberi szervezetbe jutó egészségkárosító anyagok, mint kockázati tényezők részben természetes eredetűek, részben az előállítás során kerülnek az élelmiszerbe (GYALMOS és MOLNÁR, 1999).

A vegyszeres növényvédelmi munkák elvégzése során is jelentős az esélye, hogy peszticidek – illetve a mezőgazdasági művelésbe vont területeken nagyobb mennyiségben fellelhető egyéb, akár önmagukban is veszélyt jelentő xenobiotikumok, többek között nehézfémek – kombinációival mérgeződjön akár a kijuttatást végző személy, akár egy adott élőhely teljes ökoszisztémája, ami rendkívül súlyos – akár a születendő utódok

torzfejlődését is maga után vonó - következményekkel járhat (DARVAS, 2003). Sajnos a kombinációk nagy száma miatt az általános toxikológiai, illetve ökotoxikológiai következmények ma még nincsenek megfelelően feltérképezve annak ellenére, hogy az utóbbi időben különösen a nehézfémek más vegyületekkel alkotott kombinációinak tanulmányozása jelentős teret nyert a toxikológiai kutatások területén belül mind madár (FEJES és mtsai, 2001; KERTÉSZ, 2001), mind emlős (INSTITÓRIS és mtsai, 2001; PAPP és mtsai, 2001) tesztszervezetet alkalmazó kísérleti elrendezésekben.

A demográfiai robbanás nyomán a világ élelmiszerigénye egyre nagyobb, ezt az igényt ki kell elégíteni. Mivel a termőterületek növelésére egyre kisebb a lehetőség, sőt helyenként a mezőgazdasági termőterületek csökkenésével kell számolnunk, ezért ma már nincs módunk arra, hogy lemondjunk a mezőgazdasági vegyi anyagokról.

A különféle xenobiotikumok toxikológiai vizsgálatakor – és ennek megfelelően peszticidek ökotoxikológiai tesztelése során is - döntő részben az egyes kémiai ágensek külön-külön kerülnek alkalmazásra, ugyanakkor nem hagyható figyelmen kívül az a tény, hogy a vegyi terhelés általában komplex módon jelentkezik, így számolni lehet az egyidejűleg jelen levő vegyi anyagok együttes méreghatásával, interakciójával, melynek következtében a komponensek egymás méreghatását módosíthatják. A kutatók érdeklődése fokozatosan az interakciós hatások tanulmányozása felé fordult nemcsak az ökotoxikológia területén, hanem minden olyan egyéb területen is, amely az egészségvédelem és a kémiai biztonság kérdésével foglalkozik (OSKARSSON, 1983; DANIELSSON és mtsai, 1984; SPEIJERS és SPEIJERS, 2004; YOUN-JOO és mtsai, 2004).

2. KUTATÁSI CÉLOK

Vizsgálataim célja volt:

- A környezetben legnagyobb mennyiségben előforduló és az élő szervezetekre fokozottan veszélyesnek minősülő nehézfémek (réz, kadmium) és
- Két széles körben felhasznált herbicid (pendimetalin, S-metolaklór) egyedi és esetleges együttes embriókárosító hatását feltárjam.
- A kísérletbe vont vegyi anyagok toxikus hatását az embrionális fejlődés korai és kései szakaszában is vizsgáltam,
- Amelynek első lépéseként a nehézfémek és peszticidek egyedi embriókárosító hatását mértem fel az általam alkalmazott vizsgálati rendszerben.

A vizsgálatsorozat alkalmas annak tanulmányozására, hogy a környezeti nehézfém-terhelés mellett miként érvényesül a vizsgálatba vont peszticidek méreghatása a tesztorganizmusként választott fejlődő madárembrióban. Mivel a gyakorlatban használatos ökotoxikológiai vizsgálati módszerek elsősorban az egyedi méreghatás vizsgálatára szorítkoznak, ezért a növényvédő szerek interakciós hatásaira vonatkozó adatok hiánypótlónak tekinthetők.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3. 1. Vizsgálati anyagok

3. 1. 1. Gyomirtó szerek

- Stomp 330 EC (33% pendimetalin)
- Dual Gold 960 EC (960g/l S-metolaklór)

3. 1. 2. Nehézfémek

- Réz-szulfát
- Kadmium-szulfát

3. 2. Alkalmazott koncentrációk

A nehézfémek esetében az alkalmazott koncentráció 0,01% volt, egy előzetes vizsgálat eredményeit (FEJES, 2005) alapul véve.

A gyomirtó szereket a rendelkezésemre álló irodalmi adatok alapján a vegyszeres növényvédelmi munkák során felhasznált gyakorlati permetlé töménységben juttattam a tojásokba.

3. 3. Kísérleti állatok

Kísérleteimet házityúk (*Gallus gallus f. domestica*) tenyésztőjásokon végeztem el. Ross 308 termékeny tyúktojásokat alkalmaztam kísérleteim megkezdésekor, amelyeket a

Mezőtek Rt. Zalaapáti keltető üzeméből szereztem be. A Ross 308 fehér tollazatú húshibrid, a hazai és nemzetközi piac egyik legkeresettebb fajtája. A későbbiek folyamán rajtam kívülálló okok miatt nem nyílt arra lehetőségem, hogy e típusú tyúktojásokat biztonsággal és folyamatosan beszerezsem, ezért a továbbiakban Shaver Rusticbro tenyésztőjások felhasználására tértem át, amelyeket a sármelléki Goldavis Kft. keltető üzeméből származtak. A Shaver Rusticbro húshibrid a Ross 308 fajtához hasonló kedvező tulajdonságokkal, jó termékenységi mutatókkal rendelkezik. A kísérletsorozat végrehajtása folyamán összesen 540 db házityúk-tojást használtam fel.

3. 4. Keltetés

A szállítást követő 24 órás pihentetés után kezdtem meg a tojások keltetését Ragus típusú asztali keltetőgépben. A keltetés ideje alatt gondoskodtam a megfelelő hőmérsékletről (37-38°C), páratartalomról (65-70%) és a tojások naponta történő forgatásáról, hogy elkerüljem az embriók letapadását (BOGENFÜRST, 2004).

3. 5. A kezelések időpontja és módja

Kísérleteimben a kezelések időpontjául a keltetés megkezdésének napját választottam. Azt próbáltam modellezni, hogy milyen hatást indukál, ha a vegyi terhelés a tyúkembrió fejlődése kezdetén éri. A tojásokat az inkubáció megkezdése előtt véletlenszerűen csoportokba osztottam, ügyelve arra, hogy homológ csoportokat képezek a tojások mérete és tömege szempontjából. A tojások felszínét grafit ceruzával jelöltem meg. Az elemszám a 0. napi kezelés folyamán 60 db tojás volt csoportonként.

A házityúk tojások kezelését injektációs eljárással végeztem, amely révén a vizsgálni kívánt komponensek mechanikai sérülések kizárásával, pontosan mért dózisban juttathatók a tojás légkamrájába (KHERA és CLEGG, 1969; LUTZ, 1974; MEINIEL, 1977; VÁRNAGY és mtsai, 1982). Az injektálást megelőzően a légkamra felett, a méshéjon át lyukat fúrtam, majd ezt követően került sor a vizsgálati anyagok Ovijector automata adagolóval történő bejuttatására. Az egyedi kezelések során a vegyszereket külön-külön 0,1-0,1 ml végtérfogatban juttattam be, míg az együttes méreghatás vizsgálatok kombinációnként 0,1-0,1 ml-t – összesen 0,2 ml oldatot, illetve emulziót – injektáltam a

tojások légkamrájába. Az oldatok és az emulziók elkészítéséhez minden esetben desztillált vizet használtam, továbbá a kontroll csoportba tartozó tojásokat 0,1 ml végtérfogatú desztillált vízzel kezeltem. A kezelés befejeztével a nyílásokat paraffinnal zártam le, majd a tojásokat behelyeztem a keltetőgépbe.

3. 6. Feldolgozás

Vizsgálataim során két eltérő időszakban került sor a házityúk tojások felbontására és feldolgozásra. A keltetés megkezdésének napján kezelt tojások egy részéből - a korai fejlődési stádium vizsgálata céljából - csoportonként 10-10 db embrióból 0,1%-os ozmium-tetroxid festék felhasználásával tartós preparátumot készítettem a keltetés 2. és 3. napján (SINKOVITSNÉ és BENKŐ, 1993; KERTÉSZ, 2001). A többi kezelt tojást a kelés előtt két nappal, a keltetés tizenkilencedik napján bontottam fel és végeztem el az embriók vizsgálatát az alábbi szempontok szerint:

- Lemértem az embriók testtömegét, feljegyeztem az esetlegesen előforduló fejlődési rendellenességek számát és típusát, továbbá az elhalások időpontját és számát.
- Szövetteni feldolgozás céljára mintát vettem a májból és a hosszú nyakizomból. A 4%-os neutrális formaldehid vizes oldatában rögzített szervekből a paraffinbeágyazást követően került sor a hematoxin–eozin festésre és a minták fénymikroszkópos értékelésére (KRUTSAY, 1980; VETÉSI, 2002).
- Csontvázpreparátumot készítettem alizarin-vörös festék felhasználásával az embriók csontvázrendszerében esetlegesen előforduló fejlődési rendellenességek kimutatására (DAWSON, 1926), az értékelést sztereo-mikroszkóppal végeztem el.
- A FTIR és FT-Raman spektroszkópos módszerekkel való feldolgozás céljára máj-, agy-, valamint csőr-, karom-, tollmintát vettem. Az alkalmazott módszerekkel nyomon követhető, hogy milyen mértékben épülnek be a vizsgálati anyagok a fejlődő házityúk-embrió szervezetébe. A csirke csőr-, karom- és tollmintákat előkészítés nélkül, gyémántcella alkalmazásával, FTIR mikroszkóppal vizsgáltam.

A csirke máj- és agymintákat liofilizálás után FTIR Drift technikával, valamint FT-Raman módszerrel vizsgáltam.

3. 7. Statisztikai vizsgálat

A testtömeg adatokat varianciaanalízissel (ANOVA) értékeltem. Az embriomortalitás és a fejlődési rendellenességek statisztikai értékeléséhez az RXC Chi^2 tesztet alkalmaztam (BARÁTH és mtsai, 1996).

4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉS

4. 1. Korai embrionális fejlődés

A korai embrionális fejlődés vizsgálata során megállapítottam, hogy a nehézfémek fokozták az elhalások előfordulásának gyakoriságát, de sem a réz-, sem a kadmium-szulfát felhasználásának eredményeként nem tapasztaltam a vizsgált paraméterek tekintetében szignifikáns növekedést, amit más szerző eredménye is igazolt (FEJES, 2005). A házityúk-embriók fejlődésére ebben a szakaszban a gyakorlati permetlé töménységben felhasznált Stomp 330 EC bizonyult az egyedileg tojásba juttatott nehézfémek és peszticidek közül a legtoxikusabbnak. Az egyedi kezelések egyike sem eredményezett szignifikáns eltérést a kontroll csoporthoz viszonyítva.

Az együttesen kezelt csoportok közül a réz-szulfát és Dual Gold 960 EC kombináció alkalmazásakor szignifikánsan nőtt az elhalt embriók aránya mind a kontroll, mind a Dual Gold 960 EC-vel egyedileg kezelt csoportokhoz képest.

A fejlődési rendellenességek vonatkozásában összefoglalóan elmondható, hogy mindegyik kezelt csoportban fordult elő rendellenes fejlődésű embrió, szignifikáns eltérést azonban a statisztikai feldolgozás során egyáltalán nem tapasztaltam. A fejlődési rendellenesség elsősorban az érhalózat és a szomiták fejletlenségében, valamint az agyhólyag és a szemhólyag rendellenes fejlődésében nyilvánult meg.

4. 2. Kórbonctani feldolgozás

A tizenkilencedik napon elvégzett feldolgozás folyamán a nehézfémek szignifikánsan növelték az elhalások arányát, sőt a réz-szulfát ezen felül szignifikánsan csökkentette az állatok testtömegét is, amit alátámaszt FEJES (2005) ugyancsak házityúk-embrióval végzett kísérleteinek eredménye.

A gyomirtó szerekkel és a nehézfémekkel egyedileg kezelt csoportokban egyaránt szignifikánsan nőtt az elhalt embriók aránya a kontroll csoportban mért értékhez képest. A gyomirtó szerek (Dual Gold 960 EC, Stomp 330 EC) egyedi felhasználásakor a kezelt állatok negyede pusztult el, ami szignifikánsan növelte az elhalt embriók arányát a kontroll csoportban mért értékekhez viszonyítva. A korai fejlődési stádium vizsgálatok tapasztaltakhoz hasonlóan a készítmények embriotoxikus hatása már közvetlenül a keltetést követő időszakban megnyilvánult mind a két peszticid esetében.

Az egyedileg kezelt csoportokban a fejlődési rendellenességek előfordulásának gyakorisága mindvégig viszonylag alacsony (2,33-8,57%) szinten maradt. A testtömeg értékek alapján megállapítottam, hogy a gyomirtó szerek egyedi felhasználása során a Stomp 330 EC szignifikánsan csökkentette az embriók testtömegét.

Az együttesen kezelt csoportok közül, a nehézfém komponensként réz-szulfátot tartalmazó kombinációk esetében elmondható, hogy szignifikánsan emelkedés az elhalt embriók szempontjából csak a kontroll csoporthoz viszonyítva volt megfigyelhető. A kadmium-szulfáttal és a Dual Gold 960 EC-vel, valamint a kadmium-szulfáttal és a Stomp 330 EC-vel együttesen kezelt csoportok esetében szignifikánsan nőtt az embriomortalitás mind a kontroll, mind az egyedileg kezelt csoporthoz képest, tehát megállapítható, hogy mindkét csoportban egyértelműen fokozódott az embriotoxikus hatás a felhasznált komponensek egyedi embriókárosító méreghatásához viszonyítva. A fejlődési rendellenességek szempontjából szignifikáns eltérést csak egy esetben, a réz-szulfát és a Stomp 330 EC együttes alkalmazásakor tapasztaltam, ahol az embriók ötöde mutatott valamilyen fejlődési rendellenességet. A többi együttesen kezelt csoportban az egyedi kezelésekhez hasonló alacsony szinten maradt a fejlődési rendellenességek előfordulása. A fejlődésbeli eltérés típusát tekintve leggyakrabban ödéma, csőrkáva rövidülés a láb és a nyak hibás állás jelentkezett. A réz-szulfáttal és a Stomp 330 EC-vel, valamint a kadmium-szulfáttal és Dual Gold 960 EC-vel végzett együttes kezelés hatásaként a kezelt embriók testtömege szignifikáns módon csökkent a kontroll és az egyedileg kezelt csoportokhoz mérten, tehát megállapítható, hogy a kombinált kezelés hatásaként egyértelműen fokozódott az embriotoxikus hatás a felhasznált komponensek egyedi embriókárosító hatásához viszonyítva.

4. 3. Csontvázfestéssel történt feldolgozás

Az önállóan alkalmazott vegyi anyagok közül a réz-szulfát és a Stomp 330 EC felhasználása eredményezte a fejlődésbeli eltérések legmagasabb arányát, amely a kórbonctani feldolgozással összhangban az esetek döntő többségében a nyak, illetve a láb hibás állásában, valamint a növekedés elmaradásában nyilvánultak meg.

A kombináltan kezelt csoportok esetében a réz-szulfát és a Stomp 330 EC, valamint a kadmium-szulfát és a Dual Gold 960 EC együttes felhasználása esetén nőtt meg a Dawson-féle festési technikával kimutatható fejlődési rendellenességek száma az egyedileg kezelt csoportokhoz képest. A rendellenességek típusai jellemzően a nyak és a láb hibás állása, valamint növekedési retardáció voltak.

4. 4. Szövetteni feldolgozás

A kórszövetteni vizsgálat a kezelt állatoknál a vizsgált csoportok egyikében sem tárt fel az alkalmazott vegyületek esetében máj- vagy izomkárosító hatást.

4. 5. FTIR és FT-Raman spektroszkópos feldolgozás eredménye

A spektroszkópos vizsgálatkor a színeképek elemzés során a felvett spektrum sávjainak intenzitását – különös tekintettel a májban megjelenő koleszterin és bilirubin sávokra – vizsgáltam, amely a molekuláris szerkezet szerhatásra történő átrendeződésére utal. A sáveltolódásokat a vizsgálati anyag szövetbe való beépülése okozza. Csak egy csoportban, a Dual Gold 960 EC hatásaként tapasztaltam változást. A májminták elemzése a bilirubinszint emelkedését, továbbá a koleszterinszint csökkenését jelezte. Az agyból származó szövetteni minták értékelése folyamán kevésbé intenzív sávintenzitás eltérést tapasztaltam.

4. 6. Javaslatok

Megítélésem szerint az általam elvégzett vizsgálat sorozat az alábbiakban részletesen bemutatásra kerülő vizsgálati módszerekkel, illetve feldolgozási metodikákkal tovább

bővíthető, ezáltal a kísérletbe vont kémiai ágensek egyedi tulajdonságai, valamint interakciós viselkedése az élő szervezetekben jobban megismerhető.

A vizgálatsorozat kiegészíthető:

- A szövettani feldolgozás céljára eltávolított (szív, máj), valamint egyéb szervek tömegének leméréseivel.
- A hosszú nyakizmon és a májon túl további szervekre kiterjedő kórszövettani vizsgálatokkal.
- Az alkalmazott vegyi anyagok, valamint azok metabolitjainak biokémiai, bomlásdinamikai vizsgálatával.
- A száraz és nedves testtömeg lemérése, illetve a szervfejlődés és test differenciálódása alapján az embriók részletes értékelésével az embrionális fejlődés középső szakaszában, amikor az embriók méretéből adódóan a bemutatott festési eljárással nem nyílik lehetőség tartós preparátum készítésére.
- Embrionális korban az arteria umbilicalisából üvegkapilláris segítségével nyert vérmintákból (VÁRNAGY, 1981; KERTÉSZ és HLUBIK, 2002), egyes vérplazma paraméterek (glükóz, kalcium, magnézium, anorganikus foszfát, AST, ALT, ALP, LDH, pChE, összfehérje, albumin) vizsgálatával.
- Mivel a Dual Gold 960 EC gyomirtó szer alkalmazásakor a spektroszkópiai értékelés a toxikus hatással összefüggésben a keletkezett bilirubin koncentrációjának növekedését mutatta ki, célszerűnek tartom a vérplazma paraméterek vizsgálata során az epefesték plazmában történő koncentrációjának vizsgálatát.
- A vadmadár fajok fokozott érzékenységéből kifolyólag javasolom a vizsgálatok víziszárnyas (vadkacsa), valamint magevő (fácán, japán fűrj) fajokon történő elvégzését.

- A kísérletek folyamán alkalmazott injektálós kezelési módon túl megítélésem szerint célszerű volna az elvégzett vizsgálatot kiegészíteni a növényvédelmi gyakorlat során érvényesülő expozíciós viszonyokat jobban modellező bepermetezéssel (bemerítéses, fűrésztéses) kezeléssel, valamint az alkalmazott eltérő kezelési technikák során nyert eredmények összehasonlításával.
- A kísérletek keltethetőségi és posztembrionális vizsgálatokkal egészíthetők ki, melyek további információt szolgáltathatnak a felhasznált anyagok biológiai rendszerekben történő egyedi és együttes viselkedésére vonatkozóan.

A vegyszeres növényvédelemben peszticidként széles körben felhasznált réz-szulfát, valamint a gyakorlati permetlé töménységben kísérletbe vont gyomirtó szerek vizsgálatából származó eredmények alapján javaslom az embert körülvevő élővilág védelme érdekében a növényvédelmi gyakorlat során az integrált növényvédelmi technológiák és a biológiai védekezés eszközeinek (FISCHL, 2000) minél szélesebb körben történő meghonosítását. Agronómiai és agrotechnikai kutatások alapján például kertészeti ültetvényeken vegyszerkímélő technológia – növényérzékelős permetezőgépek – használata révén a kijuttatott peszticidek mennyisége akár 75%-kal is csökkenthető, melynek eredményeként a környezet terhelése jelentősen mérséklődik (DIMITRIEVITS, 2004). A vegyszeres növényvédelmi munkák során a peszticidek kijuttatását végző ember egészségének védelme érdekében érdemesnek tartom a dolgozatban bemutatott Raman spektroszkópia felhasználási lehetőségeinek vizsgálatát, amely révén az emberi szervezetbe bekerülő mikromennyiségek, illetve a hatóanyagok és azok metabolitjainak felhalmozódása biológiai mintából – például hajból – jól detektálható.

Összességében elmondható, hogy a feldolgozás során alkalmazásra javasolt újabb módszerek és eljárások bevezetésével, illetve a vizsgálatba vont környezetkárosító anyagok körének bővítése révén az élővilágra gyakorolt emberi hatás jobban megismerhető, továbbá a kapott eredmények gyakorlati felhasználásával környezetünk nagyobb eséllyel őrizhető meg eredeti állapotában magunk és unokáink számára.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Az FTIR és FT-Raman spektroszkópos technika alkalmazása révén új alapadatokat szolgáltatottam a kísérletbe vont vegyi anyagok embrionális korban történő felhalmozódására vonatkozóan, valamint a hatóanyagok által indukált elváltozások tekintetében.
2. Megállapítottam az egyedi és együttes mérgehatás vizsgálata során, hogy azokban a kezelt csoportokban, amelyekben a Stomp 330 EC szerepelt, erőteljesebben fordult elő embriomortalitás és fejlődésbeli elmaradás a kontroll és a gyomirtó szerrel egyedileg kezelt csoportokhoz viszonyítva, vagyis a pendimetalin hatóanyag erősen toxikus hatásának bizonyult önmagában, és a nehézfémekkel alkotott kombinációkban alkalmazva is.
3. FTIR és FT-Raman spektroszkópiai módszerekkel történt értékelés után elmondható, hogy az injektálásos kezelés eredményeként csak a Dual Gold 960 EC herbicid okozott molekuláris szinten változást az embriók máj és agyszöveiben. A gyomirtó szer a koleszterinszint csökkenést és bilirubinszint emelkedést okozott a vizsgált mintákban.
4. Megállapítottam, hogy a felhasznált nehézfémek és a peszticidek együttes felhasználásakor nagyban fokozódhat a toxicitás az alkalmazott komponensek egyedi mérgehatásához képest. Az elhalások aránya a nehézfémek és a gyomirtó szerek kombinált alkalmazásakor a korai fejlődési stádium vizsgálata esetén elérte 10-40%-ot, míg a 19. napi feldolgozás során megközelítette az 50%-ot.

6. PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés témaköréből megjelent publikációk

Tudományos cikkek

P. Budai, S. Fejes, L. Várnagy, R. Szabó & M. Keserű: Embryonic toxicity of a dimethoate containing insecticide formulation and Cu-sulphate in chicken after individual or combined administration. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent, 2002. 67 (2) 99-103.

S. Fejes, P. Budai, L. Várnagy, T. Molnár, R. Szabó & T. Fáncsi: Toxicity of a mancozeb containing fungicide formulation and Cu-sulphate to chicken embryos after administration as single compounds or in combination. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent, 2002. 67 (2) 105-109.

R. Szabó, P. Budai, S. Fejes, L. Várnagy, M. Keserű: Embryonic toxicity of a mancozeb containing fungicide formulation and Cu-sulphate in pheasant after individual or combined administration. Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University, 2003. 68 (4b) 803-806.

Fejes S., Budai P., Szabó R., Molnár T.: Eltérő kezelési módok eredményeinek összehasonlítása egy nehézfém és egy peszticid toxikológiai vizsgálatában. Acta Kaposváriensis. 2004, Vol 8 No 2, 33-40.

É. Juhász, R. Szabó, M. Keserű, S. Fejes, P. Budai, V. Kertész, L. Várnagy: Early embryogenesis study on a dimethoate containing formulation and Cd-sulphate in chicken embryos. Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University, 2005. 70 (4) 1075-1078.

Keserű M., Komlósi V., Mink J., Fáncsi T., Szabó R., Juhász É., Tavaszi J., Várnagy L.: Két herbicid és egy inszekticid méreghatásának vizsgálata madárembriókban. Acta Kaposváriensis. 2005, Vol 9 No 1, 1-12.

É. Juhász, R. Szabó, M. Keserű, P. Budai, L. Várnagy: Toxicity of a pendimethalin containing herbicide formulation and three heavy metals in chicken embryos. Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University, 2006. Vol 71 (2a) 107-110.

Keserű Mihály, Juhász Éva, Szabó Rita, Tavaszi Judit, Várnagy László: Három növényvédő szer egyedi méreghatásának vizsgálata madárteratológiai tesztben. Növényvédelem, 43 (3), 2007. 113-119. old.

Rita Szabó, Sándor Fejes, Virág Kertész, Mihály Keserű, Éva Juhász, Péter Budai, László Várnagy: Study of the toxic effects of an insecticide and two heavy metals (copper and cadmium sulphate) on chicken embryos. Georgikon for Agriculture 16 (1), 2006. p. 103-115.

Tudományos előadások

P. Budai, S. Fejes, L. Várnagy, R. Szabó & M. Keserű: Embryonic toxicity of a dimethoate containing insecticide formulation and Cu-sulphate in chicken after individual or combined administration. 54th International Symposium on Crop Protection. Gent, 7th May 2002, Summaries p. 186.

S. Fejes, P. Budai, L. Várnagy, T. Molnar, R. Szabó & T. Fáncsi: Toxicity of a mancozeb containing fungicide formulation and Cu-sulphate to chicken embryos after administration as single compounds or in combination. 54th International Symposium on Crop Protection. Gent, 7th May 2002, Summaries p. 187.

R. Szabó, P. Budai, S. Fejes, L. Várnagy, M. Keserű: Embryonic toxicity of a mancozeb containing fungicide formulation and Cu-sulphate in pheasant after individual or combined administration. 55th International Symposium on Crop Protection. Gent, 6th May 2003, Summaries p. 209.

Juhász Éva, Keserű Mihály, Szabó Rita, Fejes Sándor, Budai Péter, Várnagy László:
Egyes növényvédő szerek méreghatásának vizsgálata házityúk-embriókon. TOX'2004.
Harkány, 2004. október 14-16. Összefoglalók, 16. old.

Szabó Rita, Keserű Mihály, Fejes Sándor, Juhász Éva, Budai Péter, Várnagy László:
Korai fejlődési stádium vizsgálata házityúk-embriókon BI 58 EC és kadmium-szulfát
együttes alkalmazása esetén. XV. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely, 2005.
január 26-28. Összefoglalók, 56. old.

É. Juhász, R. Szabó, M. Keserű, S. Fejes, P. Budai, V. Kertész, L. Várnagy: Early
embryogenesis study on a dimethoate containing formulation and Cu-sulphate in chicken
embryos. 57th International Symposium on Crop Protection. Gent, 10th May 2005,
Summaries p. 322.

Juhász Éva, Keserű Mihály, Szabó Rita, Fejes Sándor, Budai Péter, Várnagy László:
Növényvédő szerek és nehézfémek méreghatásának vizsgálata házityúk-embriókon,
TOX'2005. Galyatető, 2005. október 13-15. Összefoglalók, 39. old.

Juhász Éva, Keserű Mihály, Szabó Rita, Fejes Sándor, Budai Péter, Várnagy László: A
Stomp 330 EC herbicid és két nehézfém méreghatásának vizsgálata házityúk-embriókon.
XVI. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely, 2006. január 26-27. Összefoglalók,
45. old.

É. Juhász, R. Szabó, M. Keserű, P. Budai, L. Várnagy: Toxicity of a pendimethalin
containing herbicide formulation and three heavy metals in chicken embryos. 58th
International Symposium on Crop Protection. Gent, 23th May 2006, Summaries p. 111.

Juhász Éva, Keserű Mihály, Szabó Rita, Budai Péter, Várnagy László: Két növényvédő
szer és három nehézfém méreghatásának vizsgálata házityúk-embriókon. TOX'2006.
Galyatető, 2006. október 4-6. Kivonatok, 35. old.

Válogatás más témakörökben született publikációkból

Fejes S., Budai P., Szabó R.: A kadmium-szulfát és a BI 58 EC interakciós vizsgálata házityúk-embrión. Akadémiai beszámoló. Budapest. SZIE ÁOTK 2002. január 24.

Fejes S., Budai P., Várnagy L., Szabó R., Keserű M.: A dimetoát és a réz-szulfát kombinációs madárteratológiai vizsgálata. XII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely, 2002. január 30 - február 1. Összefoglalók, 47. old.

Fejes S., Budai P., Várnagy L., Szabó R., Keserű M.: A réz-szulfát és a Dithane M-45 interakciós vizsgálata házityúk-embrión. XII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely, 2002. január 30 - február 1. Összefoglalók, 48. old.

Fejes S., Budai P., Szabó R.: A réz-szulfát és a BI 58 EC interakciós vizsgálata házityúk-embrión. VIII. Ifjúsági Tudományos Fórum. Keszthely, 2002. március 28.

Fejes S., Keserű M., Szabó R., Juhász É., Kulcsár Szabó Z.: Különböző kezelési módok eredményeinek összehasonlítása egy peszticid és egy nehézfém interakciós vizsgálatában. XIII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely, 2003. január 29-31. Összefoglalók, 60. old.

Szabó R., Keserű M., Kulcsár Szabó Z., Budai P., Fejes S.: A kadmium-szulfát és a BI 58 EC együttes méreghatásának vizsgálata házityúk-embriókon. XIII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely, 2003. január 29-31. Összefoglalók, 79. old.

Fejes S., Szabó R.: A réz-szulfát és a Dithane M-45 interakciós vizsgálata fácánembrión. IX. Ifjúsági Tudományos Fórum. Keszthely, 2003. március 20.

L. Várnagy, P. Budai, S. Fejes, M. Susan, T. Fáncsi, M. Keserű, R. Szabó: Toxicity and degradation of metolachlor (Dual Gold 960 EC in chicken embryos. 55th International Symposium on Crop Protection. Gent, 6th May 2003, Summaries p. 210.

L. Várnagy, P. Budai, S. Fejes, M. Susan, T. FánCSI, M. Keserű, R. Szabó: Toxicity and degradation of metolachlor (Dual Gold 960 EC) in chicken embryos. Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University, 2003. 68 (4b) 807-811.

Szabó R., Keserű M., Kulcsár Szabó Z., Budai P., Várnagy L.: A réz-szulfát és Dithane M-45 együttes toxicitásának vizsgálata fácánembrión. TOX'2003. Zalakaros, 2003. november 6-8. Kivonatok, 27. old.

Szabó R., Keserű M., Fejes S., Budai P., Juhász É.: A diklórfosz (Unifosz 50 EC) és az atrazin (Hungazin PK 50 WP) egyedi toxicitásának vizsgálata fejlődő madárembrióban. XIV. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum. Keszthely, 2004. Január 28-30. Összefoglalók, 85. old.

R. Szabó, M. Keserű, S. Fejes, P. Budai, É. Juhász, Z. Kulcsár Szabó: Toxicity of a dichlorphos containing insecticide formulation and an atrazine containing herbicide formulation in chicken embryos after individual administration. 56th International Symposium on Crop Protection. Gent, 4th May 2004, Summaries p. 239.

Szabó Rita, Keserű Mihály, Fejes Sándor, Juhász Éva, Budai Péter, Várnagy László: Korai fejlődési stádium vizsgálata házityúk-embriókon egy inszekticid és egy nehézfém együttes alkalmazása esetén. TOX'2004. Harkány, 2004. október 14-16. Összefoglalók, 17. old.

Várnagy László, Budai Péter, Fejes Sándor, Keserű Mihály, Szabó Rita, Juhász Éva: Egyes növényvédőszer-hatóanyagok bomlásdinamikája és toxicitása madárembriókban. Magyar Állatorvosok Lapja. 2004/12, 126. évfolyam, 755-760. old. IF.: 0,158

R. Szabó, M. Keserű, S. Fejes, P. Budai, É. Juhász, Z. Kulcsár Szabó: Toxicity of a dichlorphos containing insecticide formulation and an atrazine containing herbicide formulation in chicken embryos after individual administration. Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University, 2004. 69 (4) 811-814.

É. Juhász, R. Szabó, M. Keserű, S. Fejes, P. Budai, V. Kertész, L. Várnagy: Teratological study of an organophosphate insecticide and cadmium-sulphate on chicken embryos in the early phase of development. ECOTOX 2005, Brno, September 5-7, 2005, Book of Abstracts p. 148.

É. Juhász, R. Szabó, M. Keserű, P. Budai, L. Várnagy: Teratogenicity testing of a 2,4-D containing herbicide formulation and three heavy metals in chicken embryos. 58th International Symposium on Crop Protection. Gent, 23th May 2006, Summaries p. 112.

É. Juhász, R. Szabó, M. Keserű, P. Budai, L. Várnagy: Teratogenicity testing of a 2,4-D containing herbicide formulation and three heavy metals in chicken embryos. Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University, 2006. Vol 71 (2a) 111-114.