

Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ
Természettudományi Kar
Állattani Tanszék

Bulldock 25 EC (cyfluthrin) növényvédőszer teratológiai
vizsgálata

Konzulens:
Dr. Molnár Péter
Egyetemi docens

Készítette:
Sebestyén Adrienn
Biológia Bsc

Szombathely
2013.

Tartalom

1	Bevezetés	1
2	Célkitűzés.....	2
3	Irodalmi áttekintés	3
3.1	Az ökotoxikológia kialakulása és fejlődése napjainkig.....	3
3.2	Toxikológiai alapfogalmak.....	5
3.3	Peszticidek.....	9
3.4	A DDT története	10
3.5	Réz-szulfát.....	13
3.6	Bulldock 25 EC	14
3.7	Cyfluthrin: egy széles körben használt piretroid	15
3.8	Toxikológiai vizsgálatok	16
3.9	Teratológia.....	17
3.10	Teratológiai vizsgálatok madáron.....	18
3.11	Tyúk egyedfejlődése	20
4	Módszerek.....	23
4.1	Madárteratológia.....	23
4.1.1	Tojások keltetése.....	23
4.1.2	Kezelések időpontja és módja.....	23
4.1.3	Feldolgozás	24
4.1.4	Statisztikai értékelés	24
4.2	Shell-less kultúra	24
4.2.1	Keltetés	24
4.2.2	Előkészítés	24

5	Eredmények	25
5.1	Madárteratológia.....	25
5.1.1	Embriómortalitás	25
5.1.2	Fejlődési rendellenesség	26
5.1.3	Tömeg	27
5.2	Shell-less.....	27
6	Megvitatás	28
7	Köszönetnyilvánítás	29
8	Irodalomjegyzék	30

1 Bevezetés

A XXI. század egyik legnagyobb problémája a környezetszennyezés. A környezetbe kijutó vegyületek mennyisége fokozatos növekedést mutat, ami az ökoszisztémába bekerülve felborítja annak egyensúlyát, ezzel helyrehozhatatlan károkat okoz. A mezőgazdaságban egyre több vegyületet alkalmaznak, a jobb és nagyobb terméshozam elérése érdekében. A peszticidek megvédik a növényeket a különböző kártevőktől, illetve szabályozzák a növények fejlődését. Az ilyen vegyülettel kezelt növényeket az állatok elfogyasztják, ami a szervezetükre károsan hathat, vagy esetleg az egyed pusztulásához vezethet. A növényvédőszer toxicitását különböző teszteken, állatmodelleken forgalomba kerülés előtt alaposan vizsgálják, ennek ellenére az ökoszisztémára, a különböző állatfajokra kifejtett hatásuk még kevésbé ismert.

Szakedolgozatom témája egy, a hétköznapi életben használatos peszticid madarakra kifejtett toxicitásának vizsgálata volt. A cyfluthrinnal, a Bulldock 25 EC hatóanyagával kapcsolatban olyan kísérleti eredmények láttak napvilágot mely szerint károsítja a madarak reprodukciós potenciálját. Ennek a kérdésnek a részletesebb vizsgálatához egy egyszerű, de széles körben használt madár teratológiai modellt választottam.

2 Célkitűzés

1. *In vivo* és *in vitro* toxikológiai módszerek áttekintése és bemutatása az irodalom alapján
2. Házityúk embrió, mint teratológiai modell bemutatása
3. Házityúk embrió fejlődésének szemléltetése Shell-less kultúra segítségével
4. Bulldock EC 25 növényvédőszer teratológiai vizsgálata házityúk embrión

3 Irodalmi áttekintés

3.1 Az ökotoxikológia kialakulása és fejlődése napjainkig

Az ipari forradalom egyik következménye, hogy környezetünkben robbanásszerűen elszaporodtak a szerves és szervetlen kémiai vegyületek (Buday, 2006). Évente több ezer új molekulát szabadalmaztatnak és dobnak piacra, ezek töredékét vizsgálják csak meg abból a szempontból, hogy hogyan hatnak ránk vagy a környezetünkre. Szerves és szervetlen anyagok élő szervezetre gyakorolt káros hatásait a toxikológia vizsgálja. Múltja időszámítás előtti időszakig nyúlik vissza (Bordás, 2006/A). Az első írásos feljegyzések már jóval az időszámítás előtt (i.e. 3-4 ezer évben) részletezik egyes növényrészek egészségre károsító hatását, illetve az állatok harapásának okait és hatásait. Fent maradtak pl. az Eber papiruszok (i.e. 1550-ből), melyeket a 19. század vége felé fejtett meg egy német egyiptológus. Ebben a műben a mérgező anyagokra vonatkozó megfigyelések nagy része még ma is megállja a helyét. Ilyenek mérgek például az ópium, ólom, réz-szulfát stb. I.e. 700 és - i.sz. 300-között a mérgező anyagokról szerzett ismereteink jelentősen bővültek, sőt még a mérgező anyagok osztályozásával is próbálkoztak. A mérgek használata öngyilkosságok és gyakrabban politikai gyilkosságok elkövetése céljából évszázadokon keresztül folytatódott és még ma sem szűnt meg. Pl: Kleopátra (Kr. e. 51 – Kr. e. 30), aki az öccsét mérgezte meg. A 12. században számos növényi, állati és ásványi anyag mérgező tulajdonsága már ismert volt és történt néhány kísérlet a mérgek eredetük szerinti osztályozására. A reneszánsz korban az elméletek minősége egyre inkább javult és a megfigyelések egyre tényyszerűbbé váltak. Paracelsus (1493-1541) a bányászok megbetegedéseit vizsgálta. Kinyilatkoztatta a jól ismert alapelvet, hogy a dózis teszi a mérget méreggá, és van egy küszöbérték, amely alatti expozíció esetén nem jön létre mérgezés. A 16-17. század kiemelkedő alakjai között tartják számon Georg Bauer-t és Francis Bacon-t. Az ipari tevékenységek közül különösen a bányászat és az ércfeldolgozás toxikológiai veszélyeire hívták fel a figyelmet.

A modern toxikológia atyja Mattieu J. B. Orfila (1787-1853), aki állatkísérleteket végzett a toxikus anyagok dózisa és az általuk okozott biológiai hatás kapcsolatának megállapítása érdekében. Orfila az igazságügyi toxikológiában is jelentős szerepet játszott, az exhumált holttestekből nyert szövetekből kimutatta a mérge jelenlétét.

XX. század elejére egészen napjainkig a toxikológusok száma és az általuk elvégzett munka mennyisége exponenciálisan növekedett. Az eddig ismerteken felül a toxikológia új

területei fejlődtek ki, mint például foglalkozási-, klinikai-, igazságügyi- és ökotoxikológia. (Bordás, 2006/A)

Az ipari forradalomtól kezdődően a környezetbe kijutó kémiai vegyületek mennyisége exponenciális növekedést mutat. Az energiatermeléstől a gyógyszeriparon keresztül a nagyipari mezőgazdaságig kémiai szennyező anyagok kerülnek ki a környezetünkbe, melyek károsan befolyásolhatják egészségünket. Ugyanilyen jelentőségű probléma, hogy ezek a vegyületek bekerülnek az ökoszisztémába és felborítva annak egyensúlyát helyrehozhatatlan károkat okozhatnak. Az ökotoxikológia a bioszférába jutó környezetszennyező anyagok az élőlények közösségeire gyakorolt káros hatásait tanulmányozza. A kémiai anyagok a különböző szennyező forrásokból a levegőbe, vízbe és a talajba, azaz a három alapvető környezeti elembe, vagyis a környezeti mátrixba kerülnek, a mátrixokból pedig az élő szervezetekbe. (Szücs, 2002). A legfontosabb és a társadalomra legveszélyesebb anyagokat az Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) nemzetközi szervezet a következően listázza (**1. ábra**):

Az ATSDR lista első 20 tagja

1.	Arzén
2.	Ólom
3.	Higany
4.	Vinil-klorid
5.	Benzol
6.	Poliklórozott bifenilek (PCB)
7.	Kadmium
8.	Benzo(a)-pirén
9.	Poliaromás szénhidrogének (PAH)
10.	Benzo(b)-fluorantén
11.	Kloroform
12.	DDT, P'P'- 1,1,1-trikloro-2,2-bis(p-klorofenil)etán
13.	Aroclor 1260
14.	Aroclor 1254
15.	Trikloroetilén
16.	Króm (VI)
17.	Dibenz[a,h]antracén
18.	Dieldrin
19.	Hexaklór-butadién
20.	DDE, P,P' 1,1-dikloro-2,2-bis(klorofenil)-etilén

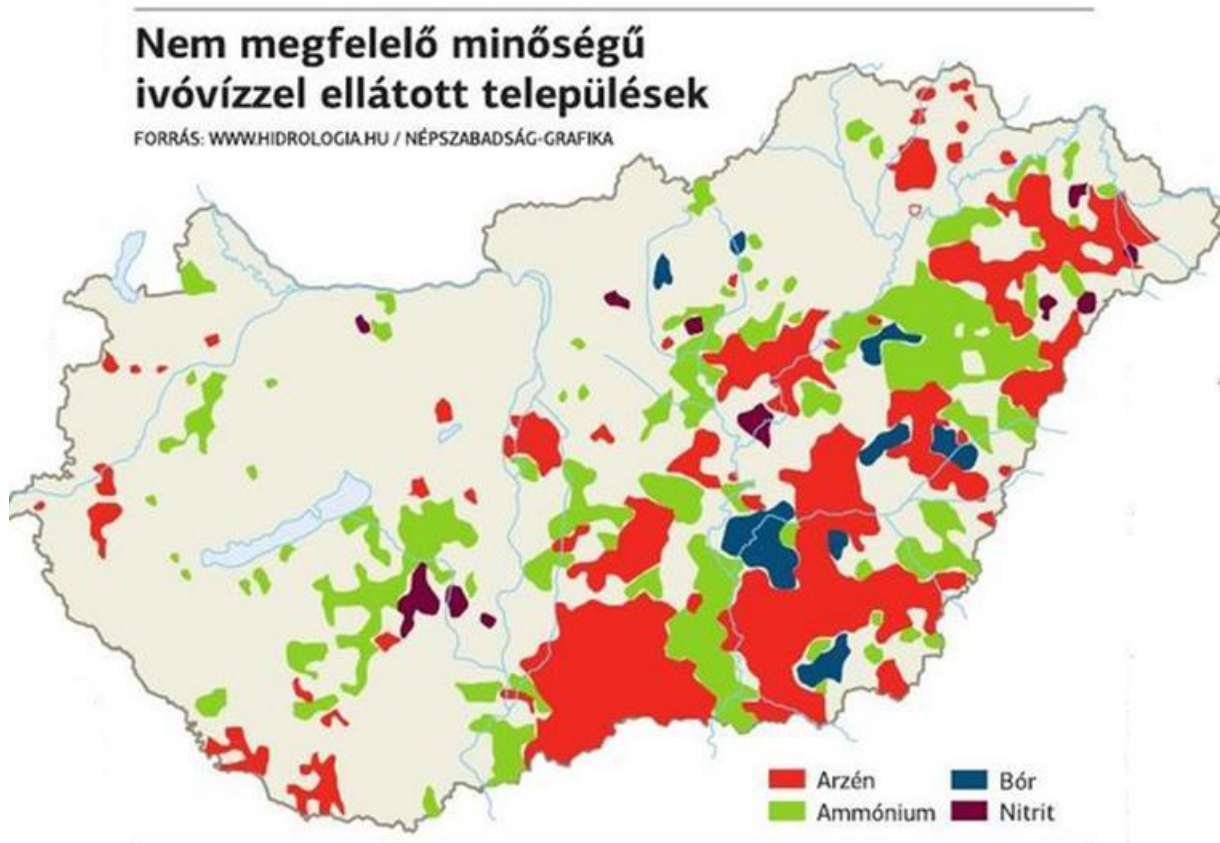


Jelmagyarázat:

- Fémek
- VOC
- PCB
- PAH
- Növényvédőszer

1. ábra A 20 legkárosabb környezetszennyező anyag (<http://www.atsdr.cdc.gov/>)

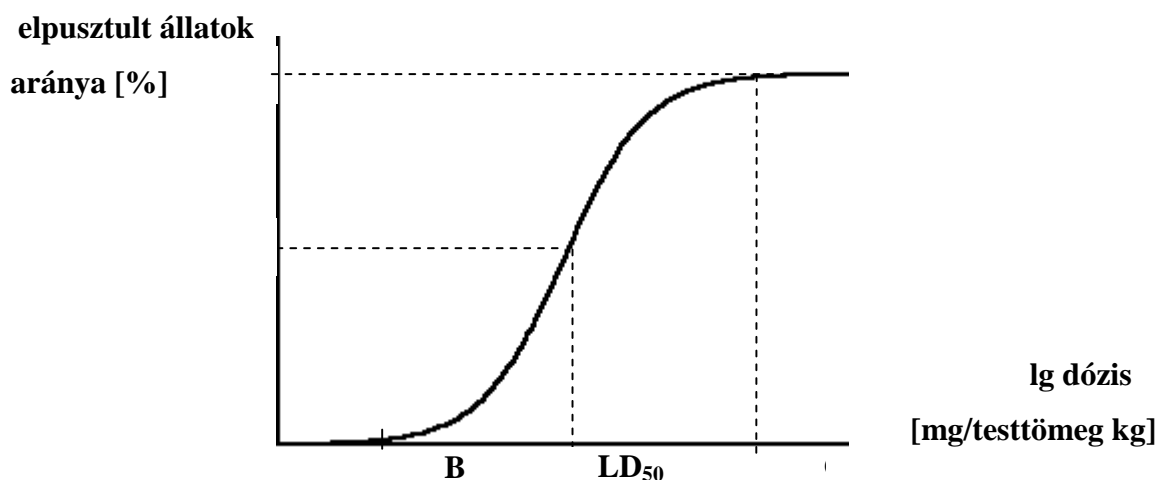
Ezen a listán szerepelnek természetes forrásból származó vegyületek, mint például az arzén, ami még Magyarországon is jelentős koncentrációban megtalálható az ivóvízben (**2. ábra**), különböző ipari szennyező anyagok, mint az ólom, a higany, a vinyl klorid vagy a benzol, valamint különböző növényvédő szerek, mint a DDT vagy a Dieldrin.



2. ábra Arzén és egyéb szennyező anyagok az ivóvízben Magyarországon

3.2 Toxikológiai alapfogalmak

A dózis és a hatás közötti összefüggést grafikusan egy gyakorisági függvénnyel, a dózis-hatás görbével ábrázoljuk. A koordináta rendszer vízszintes tengelyén a koncentráció logaritmusát, függőleges tengelyén pedig az exponált egyedek közül a vizsgált hatást mutatók arányát tüntetjük fel. Egy xenobiotikum halálos dózisának állatkísérletes meghatározása során kapott dózis-hatás görbe látható az **3. ábrán**.



3. ábra Dózis-hatás összefüggés grafikus ábrázolása

A görbe szigmoid alakú, kezdeti AB szakasza lapos, vagyis a dózis növelésével a populációban még nincs toxikus hatás (egyetlen állat sem pusztult el). A B pont azt a legkisebb dózist, az úgynevezett küszöbdózist jelenti, amelynél már megfigyelhető a vizsgált hatás (egy állat elpusztult). A B ponton túl, a függvény lineáris szakaszában a dózis logaritmus és a hatás egyenesen arányos. Az LD₅₀ az 50%-os letális (halálos), a C pont a 100%-os letális dózis (LD₁₀₀), melyeknél a kísérleti állatok fele, illetve 100%-a hullott el. A toxikológiában a xenobiotikum LD₅₀ értéket adják meg. Gyakori, hogy nem a halálozási arányt, hanem más hatást (pl. májkárosodás) vizsgálják. Ekkor az 50%-os effektív dózist (ED₅₀) határozzák meg, azaz azt a koncentrációértéket, melynél a kísérleti állatok felénél jelentkezik a vizsgált toxikus hatás. (Szücs, 2002)

A standardizált módszerek megfelelően egereket kezelnek a vegyület emelkedő dózisaival és 14 napig vizsgálják az állatok elhullását. Természetesen, ez a jellemzés nem ideális, hiszen nem veszi figyelembe sem az ember-állat fiziológiai különbségeket, sem azt a tényt, hogy a legtöbb toxinnak krónikus, hosszú távú hatásai is vannak, melyek jelentősen különbözhetnek az akut hatásoktól. Az LD₅₀ értékek a különböző vegyületekre nézve rendkívül széles tartományban helyezkednek el legalább 9 nagyságrendet átfogva (**4. ábra**). A vegyületeket LD₅₀ értékeik alapján sorolhatjuk különböző veszélyességi kategóriákba, pld. az erősen mérgező kategóriába azok a toxinok tartoznak, amelyeknek az LD₅₀ értéke 25 mg/kg alatt van. (Szücs, 2002)

Anyag	LD ₅₀ mg/ttkg
Etilalkohol	10 000
Konyhasó	4 000
Morfin	900
Na-fenobarbitál	150
Pikrotoxin	5
Sztichnin	2
Nikotin	1
d-tubokuratin	0,5
Tetrodotoxin	0,1
Dioxin	0,001
Botulin toxin	0,00001

4. ábra Vegyületek LD50 értékei.

(http://physiology.elte.hu/eloadas/kornyezet_egeszsegtan/4_korny_toxikologia_2012)

Toxikus anyagok csoportosítása:

A mérgező anyagok csoportosíthatók toxicitásuk mértéke, kémiai szerkezetük, eredetük, felhasználási területük, hatásmechanizmusuk alapján és aszerint, hogy melyik szervet vagy szervrendszert károsítják. (Szücs, 2002)

Toxicitásuk szerint:

- LD₅₀ (mg/testtömeg kg) (**4.ábra**)
- LC₅₀ (mg/m³)

Kémiai struktúra szerint (**5. ábra**)

Vegyfi felosztás és azok nemzetközi rövidítései

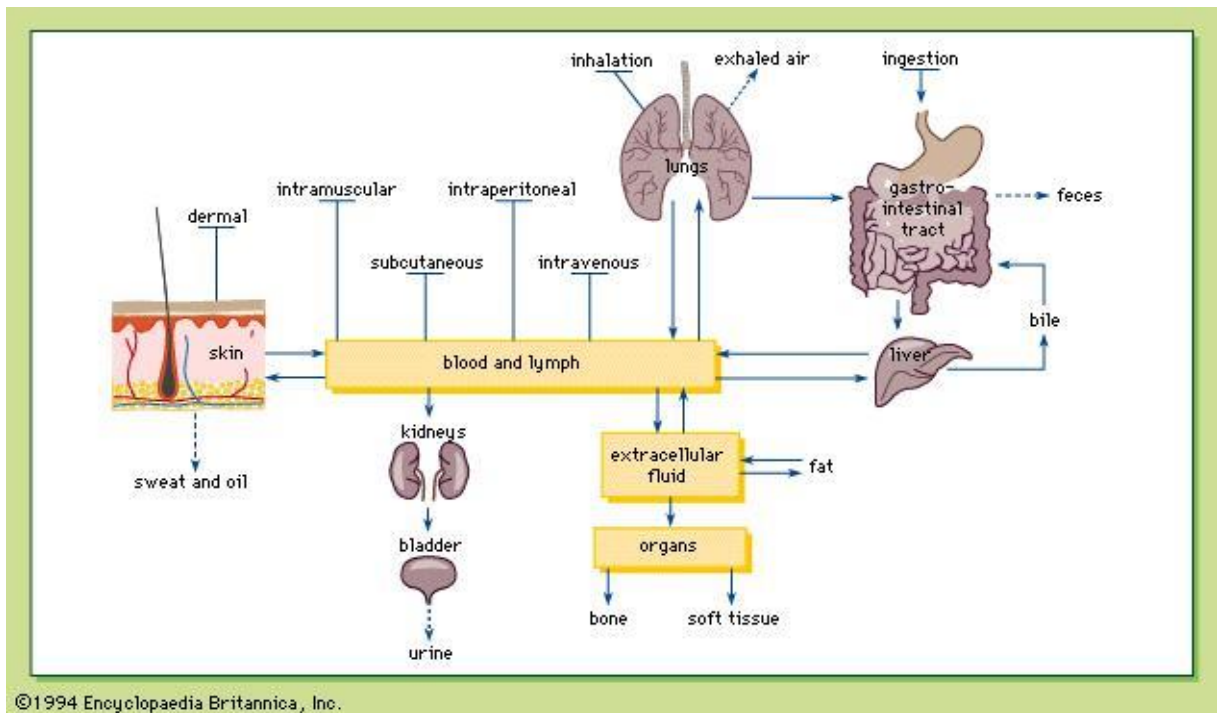
Arzén-vegyületek (AS)
Bipiridilium származékok (BP)
Karbamátok (C)
Kumarin származékok (CO)
Réz-vegyületek (CU)
Higany-vegyületek (HG)
Nitrofenol származékok (NP)
Szerves klór-vegyületek (OC)
Szerves foszfátok (OP)
Szerves ón-vegyületek (OT)
Fenoxi-ecetsav származékok (PAA)
Pirazolok (PZ)
Piretroidok (PY)
Triazin származékok (T)
Tiokarbamátok (TC)

5. ábra. A növényvédő szerek kémiai struktúra szerinti csoportosítása
VESZÉLYES ANYAGOK, KÉSZÍTMÉNYEK PESZTICIDEK Dr. Bordás Imre Budapest

Eredetük szerint:

- Növényi
- Állati
- Bakteriális
- Ásványi
- Szintetikus

Szervspecifikus hatásaik szerint: Lásd **6. ábra.**

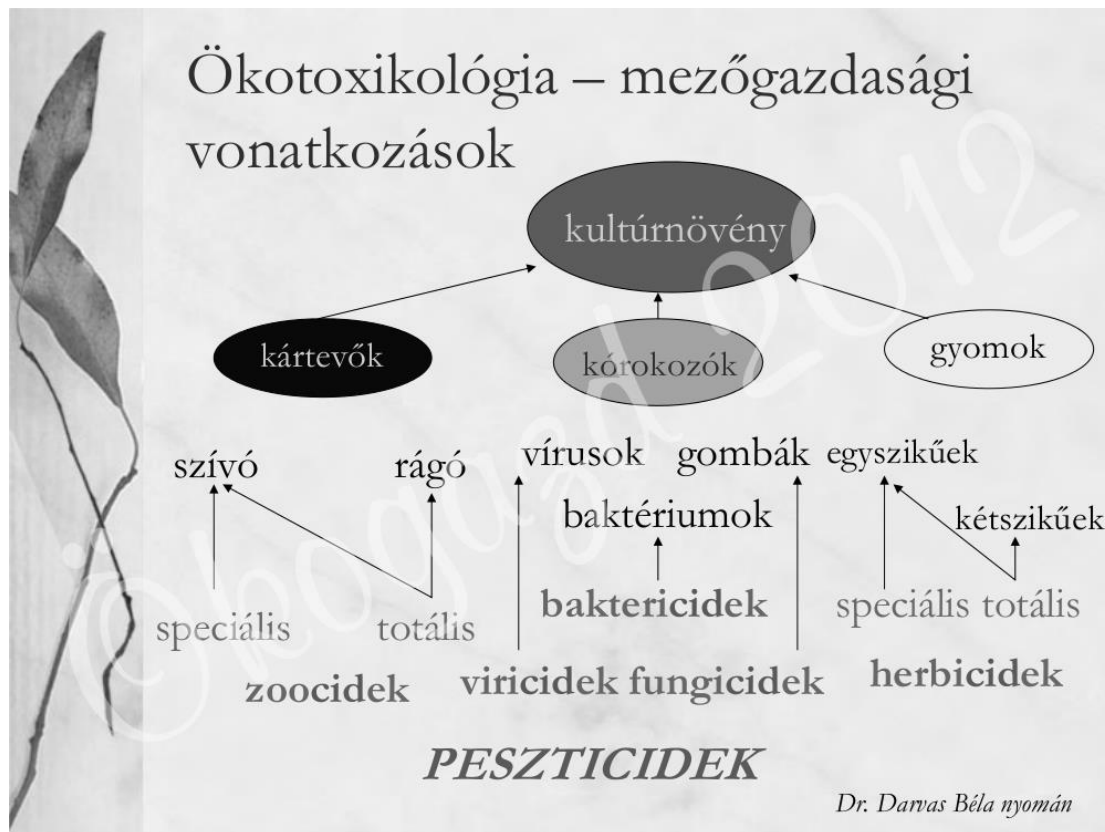


6. ábra Xenobiotikumok sorsa a szervezetben. Encyclopedia Britannica

3.3 Peszticidok

Manapság rengeteg mezőgazdasági vegyszerrel találkozunk (több mint 100.000 féle vegyszer létezik!), melyeket azért alkalmazunk, hogy „jobbá tegyék” az életünket. Ilyen vegyszerek a peszticidok is. (OKBI) A modern növényvédőszer veszélyét elsősorban széleskörű elterjedtségük adja. Általában emberre kismértékben toxikus vegyületek, amelyek azonban helytelen alkalmazás esetén az élővilágot jelentősen károsíthatják.

A peszticidok, vagy más néven növényvédő szerek olyan, anyagok melyeknek fő célja a növények védelme a nem kívánatos élőlényektől (WIKIPEDIA). Ez alapján a következő peszticidokat különítjük el (7. ábra).



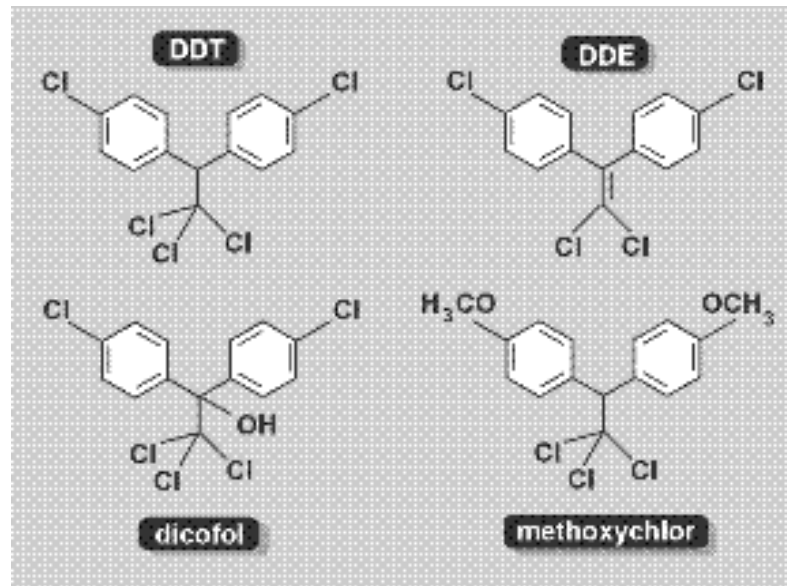
7. ábra Peszticidek csoportosítása (Darvas Béla jegyzete nyomán)

A peszticidek másodlagos célja a növények fejlődésének szabályozása. Osztályozásuk több szempont alapján történhet (veszélyesség, hatás- hatásmechanizmus, kémiai szerkezet, felhasználás módja) Már időszámítás előtt ismeretes volt a kén gombaölő hatása Kínában. Európában csak a 19.század környékén kezdték alkalmazni. Az első insecticidek a XVI. században jelentek meg. Ezek arzénvegyületeket tartalmaztak. 1940-es évek előtt a peszticideket szerves vegyületek alkották (pl.: arzén.), a DDT felfedezésével elkezdődött a szintetikus szerves vegyi anyagok kifejlesztése és gyártása.(Bordás, 2006/B)

3.4 A DDT története

A DDT vagy más néven diklór-difenil-triklórétán, a klórozott szénhidrogénekhez tartozik.(8.ábra)

A DDT rovarölő szer története valódi sikerként indult. 1874-ben Othmar Zeidler hozta létre, rovarölő tulajdonságát 1934-ben Paul Herman Müller fedezte föl, s 1948-ban orvosi Nobel-díjat kapott érte. A DDT-t már a második világháborúban használták rovarirtó szerként többek között hazánkban is. (Darvas, 1999)



8. ábra A DDT képlete

Darvas B. (1999): A piszkos tizenkettő és felebarátai. 1. Egy Nobel-díjas: a DDT. Élet és Tudomány, 54: 1350-1352.

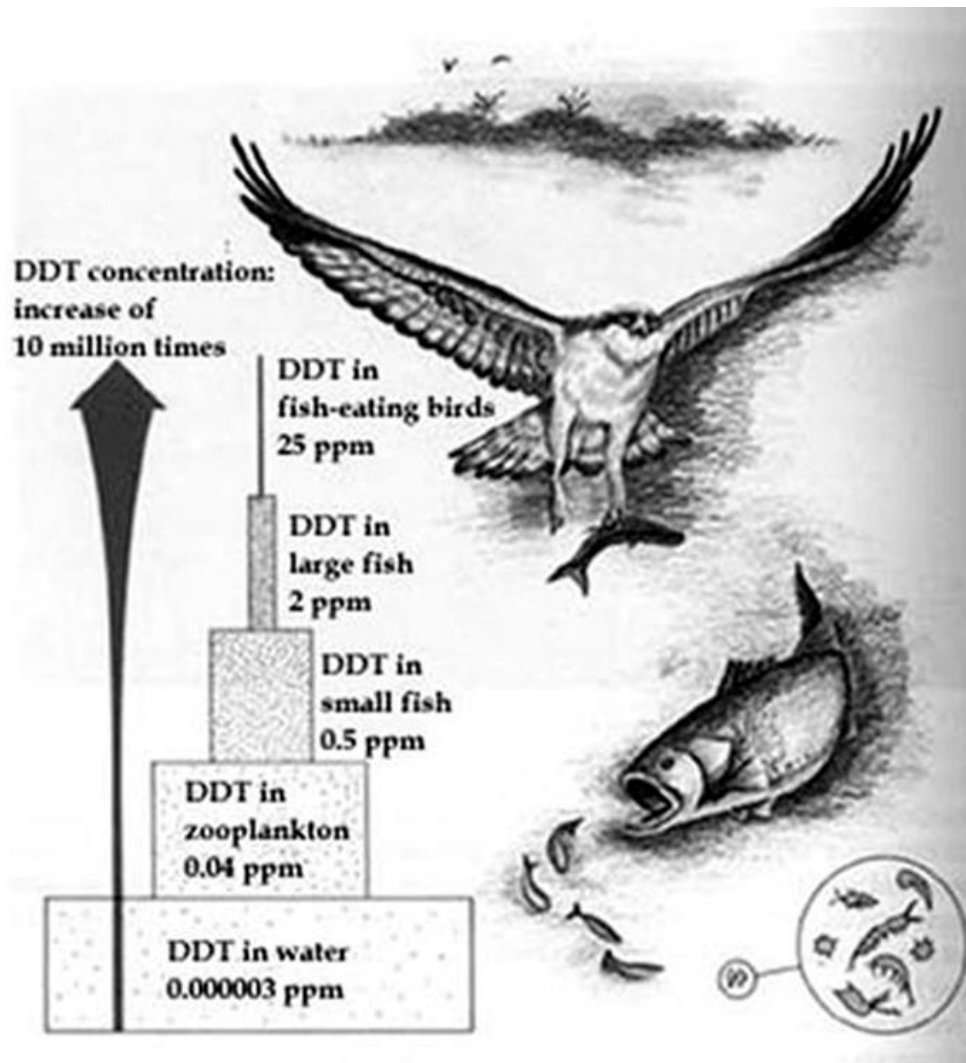
A világháborút követő időszakban a tífuszt, pestist, maláriát és sárgalázt terjesztő tetvek, bolhák és szúnyogok ellen használták, óriási sikerrel, sok százezer, talán millió életet mentett meg. Növényvédelmi célú használata is elterjedt, többek között az Európában éppen hódító kolorádóbogár ellen vetették be. Hatalmas megdöbbenést váltott ki világszerte az a felfedezés, amely során kiderült, hogy ez a vegyszer hosszú időn keresztül nem bomlik le (prezisztens), és az élő szervezetekben felhalmozódik. A 70-es években 60 országban betiltották. Mivel zsírban oldódó vegyületről van szó, a táplálékláncan keresztül eljut a végső fogyasztóig és felhalmozódik a szervezetben. A lakosság körében szerte a világon még most is kimutatható a szer a zsírszövetben, a vérben és az anyatejben. A szer rákkeltő és születési rendellenességet okozó hatása is hamar ismertté vált. Azokon a területeken ahol a szert nagy mennyiségben használták, megugrott a koraszülések és az értelmi fogyatékkal születők aránya. (National Geographic, Buday, 2006)

Nem csak rákkeltő hatása ismert, hanem az is, hogy a bomlástermékei megzavarják a szabályzásban és a növekedésben szerepet játszó természetes hormonok termelését, kibocsátását, transzportját, kötődését, reakcióját, vagy kiürülését. (Halogénezett)

Rachel Carson világsikerű könyve, a *Silent Spring* (*Néma tavasz*), bár nem tudományos írás, elsőként irányította a társadalom figyelmét a környezetvédelem kérdésére. (National Geographic)

Felhalmozódás alatt az a folyamatot értjük, melynek során a szervezetbe több xenobiotikum jut, mint amennyit átalakítani, majd kiüríteni képes a szervezet. Ezáltal egyes

szövetekben, szervekben ezek a vegyületek felhalmozódnak. Ez a jelenség a bioakkumuláció.(9. ábra) Ezt a jelenséget a klórozott szénhidrogén és szerves fémvegyület szennyezés esetén figyelték meg elsőként. A PCB-k vagy más néven poliklórozott bifenilek is ilyen lipidoldékony anyagok. Ha a vízben élő fitoplanktonokba bejutnak, lipidjeikben felhalmozódnak. A fitoplanktonok táplálékként a zooplanktonokba kerülnek, ahol a szennyező lipidek tovább koncentrálnak, majd a tápláléklánc minden egymást követő lépésében – halikrákból halakba, halakból madarakba, stb. – koncentrációjuk megközelítőleg egy nagyságrenddel növekszik. A legmagasabb koncentráció a csúcsragadozóknak és az emberekben figyelhető meg. Ezt a folyamatot, melynek során a xenobiotikum koncentrációja az adott szervezetben magasabbá válik, mint a táplálékában volt, biomagnifikációnak nevezzük.(Szücs, 2002)



9. ábra. DDT bioakkumulációja.

<http://www.learner.org/courses/envsci/unit/text.php?unit=7&secNum=5#ddt>

Ezek a példák, mind azt mutatják, hogy a különböző vegyszerek milyen súlyos hatást fejthetnek ki a környezetünkre, nem kímélve növényt, állatot és az embert.

3.5 Réz-szulfát

A rezet manapság elsősorban huzal gyártására, vegyipari katalizátorként és ötvözetek előállítására alkalmazzák. A növények számára tápanyag, de az alacsonyabb rendű szervezetek számára már kis koncentrációban is toxikus. Ezért is alkalmazzák növényvédő szerként. (Seprős, 2002)

Állattenyésztésben növekedés-serkentő. Esszenciális nyomelem, amely nélkülözhetetlen a hemoglobin képzéséhez és számos enzim zavartalan működéséhez (Machovich, 2001; Mandl, 2001).

A növényvédelemben elterjedt szer a bordói lé, tipikusan a szőlő, a napraforgó gombás fertőzése esetén használják, lemosó permetezéshez. A rézgalic vizes oldata savas, ezért mészporral keverik a semleges pH érték eléréséig.(WIKIPEDIA 2.)

Fizikai, kémiai tulajdonságait nézve: Kristályvizes alakja ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) kék színű kristályokat alkot, a kristályvízmentes forma vegytisztán fehér por, a technikai tisztaságú a szennyeződéstől függően szürkésfehér, esetleg halványzöld.

Sűrűsége: $2,284 \text{ g/cm}^3$, vízben való oldhatósága (0°C) $31,6\text{g}/100 \text{ ml}$. (WIKIPEDIA 2.)

A réz-szulfát $400\text{-}900 \text{ mg/ttkg}$ baromfik számára már egyszeri adag is toxikus. (Dowdy, 1969; Simon, 1981)

Hatásmechanizmusát tekintve a rézvegyületek a fehérjéket koagulálva károsítják a sejteket, ebből adódóan a sejt felszínén irritáló hatást fejtenek ki. Felszívódva kedvezőtlen hatást fejtenek ki a májra, vesére és a szívizomzatra. A keringésbe jutott réz a tápcsatornából csak részlegesen szívódik fel, majd a felszívódást követően a vérben az albuminhoz és az aminosavakhoz kötődik. A keringésbe jutott ionok a vérfehérjékkel hematocupreint, coeruloplazmint, a vörösvértestekkel erytrocupreint alkotnak. A szervezetbe jutott réz a májsejtek nukleusaiban, mitokondriumaiban és lizoszómáiban hepatocupreinként, a metallotioneinhez kötötten tárolódik. (Prasad és mtsai, 1970; Peterson és Talcott, 2001; Várnagy és Budai, 2003) Ha a májsejtek rézkoncentrációja meghaladja a raktározási kapacitást, a májsejtek sérülnek és ennek következtében hirtelen nagy mennyiségű réz kerül a vérbe, ami a vörösvértestek membránjának peroxidációját és feloldódását (hemolízis) eredményezi.(Balla, 1999)

3.6 Bulldock 25 EC

Egyik jellegzetes insecticid, amit a mai napig alkalmaznak a Bulldock 25 EC. Ezt a növényvédő vegyszert a gyümölcsösökben és a szőlőkben, a molykártevők ellen alkalmazzák. (Gazdabolt)

Kémiai, fizikai tulajdonságait tekintve, egy folyékony, sárgás-barna színű, aromás szagú termék. Ph-ját tekintve 1%-os oldatban 4,5 és 7,0 közötti. Sűrűsége 20 °C –on 0,89 g/cm³. Vízzel emulziót képez. Lobbanáspontja 26 °C.

Toxikológiai adatok:

A készítményre vonatkozó toxikológiai adatok:

Akut toxicitás:		
	orális:	LD ₅₀ (patkány): 630 — 757 mg/ttkg
	dermális:	LD ₅₀ (patkány): > 5000 mg/ttkg
	inhalációs:	LC ₅₀ (patkány): kb. 3 mg/l, 4 óra
Bőrirritáció:	erősen irritál (nyúl)	
Szemirritáció:	súlyos szemkárosodást okozhat (nyúl)	
Szenzibilizáció:	szenzibilizáló hatás nem várható	

Egyéb: Időleges és helyi viszketést, égő érzést és zsibbadást okozhat, bőrkárosodás nem lép fel.

Ökotoxikológiai adatok:

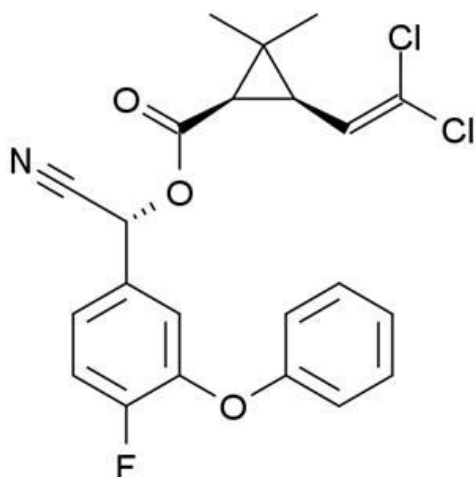
A béta-cyfluthrinra vonatkozó adatok:

Haltotoxicitás:	LC ₅₀ (szivárványos pisztráng, 96 óra): 0,08 µg/l
Daphnia:	EC ₅₀ (Daphia magna, 48 óra): 0,29 µg/l
Alga:	IC ₅₀ (72 óra): > 10 µg/l

A készítmény ökotoxikológiai megítélése kizárólag az egyes komponensekre vonatkozó ökotoxikológiai adatok, besorolása a 1999/45/EK irányelv, valamint a 44/2000. (XII.27.) EüM rendelet alapján történt. (Farmmix)

3.7 Cyfluthrin: egy széles körben használt piretroid

A növényvédő szerek különböző kémiai osztályba sorolhatók (5.ábra). A Bulldock hatóanyaga a béta-cyfluthrin .



10 ábra Cyfluthrin képlete. Forrás: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Cyfluthrin.png>

A cyfluthrin kémiai neve : α -ciano-4-fluor-3-fenoxibenzil-3-(2,2-diklórvinil)-2,2-dimetilciklopropánkarboxilát. (10.ábra) Összegképlete: $C_{22}H_{18}Cl_2FNO_3$, móltömege 434,3 g/mol Mérsékelten veszélyes peszticidek közé sorolható. (Bordás, 2006/B) (11.ábra)

Osztály	Per orális		Dermális	
	Szilárd	Folyadék	Szilárd	Folyadék
I. a. Rendkívül veszélyes	5 vagy kevesebb	20 vagy kevesebb	10 vagy kevesebb	40 vagy kevesebb
I. b. Nagyon veszélyes	5-50	20-200	10-100	40-400
II. Mérsékelten veszélyes	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III. Kismértékben veszélyes	500 felett	2000 felett	1000 felett	4000 felett
IV. Gyakorlatilag nem jelentenek akut veszélyt	-	-	-	-

11. ábra A peszticidek felosztása veszélyességük alapján (LD_{50} (mg/kg) patkányon) Bordás, 2006/B

Ez a vegyület patkányokban gyorsan felszívódik. Legnagyobb koncentrációban a petefészekben, mellékvesében, májban és a lépben figyelhető meg. A cyfluthrin és beta-cyfluthrin rágsálókban nem rákkeltő, de valószínűleg genotoxikus. (Cyfluthrin)
A cyfluthrin egy piretroid, ami blokkolja a nátrium csatornákat

Piretroidok 2 típusát különíthetjük el: a non- α -ciano-szintetikus piretroid (I.típusú) és az α -ciano-szintetikus piretroid (II.típusú). Az előbbi nem tartalmaz cianó csoportot, szemben az utóbbi típusú piretoidokkal. Az I.típusú piretroid hiperexcitációt, remegést okoz. A II.típusú piretroid sokkal mérgezőbb, hiperaktivitást, inkoordinációt és konvulziót okoz. (Bordás, 2006/B)

A piretroidok rovarokkal szemben erős hatású mérgek, emlős-toxicitása azonban alacsony, mivel az emlősök rendelkeznek olyan lebontó enzimmal, ami a rovarok szervezetéből hiányzik. Hatásmechanizmusa nem tisztázott, de idegméregként tartják számon őket. A sejtmembrán ioncsatornáin keresztül a nátriumnak és káliumnak a sejt és a környezete közötti áramlását befolyásolja az idegrendszerben. A vízi életteret erősen károsítják, halakra mérgezők. A méhekre pedig kifejezetten veszélyesek. (Dési, 2002)

3.8 Toxikológiai vizsgálatok

A toxikológiai vizsgálatok egyik legfontosabb célja a dózis és az egészségkárosodás kialakulása közötti összefüggés leírása. A vizsgálatok során a toxikológusok azt határozzák meg, hogy a xenobiotikum koncentrációjának (dózisának) növelésével egy adott egyedszámú populációban, milyen gyakorisággal fordul elő a tetszőlegesen megválasztott toxikus hatás.

A különböző vegyi anyagok toxikus hatásának meghatározására évtizedek óta élő állatokat használnak a toxikológusok. Ma már számos alternatív módszer létezik, amely lényegesen hatékonyabb, olcsóbb. Ezekre a módszerekre azért volt szükség, hogy az állatok szenvedését kiküszöböljék. Ilyen alternatív módszer például: sejt-, szövet- és szervtenyészetek használata állatok helyett; számítógépes szimulálás; mikroorganizmus-tenyészet használata stb. (Környezetvédelmi információ)

Toxikológia vizsgálatok során elkülönítünk *in vitro* és *in vivo* módszereket. Az *in vitro* kifejezés azt a folyamatot jelenti, amely nem az élőlényben, hanem laboratóriumi körülmények között történik. (Biotechnológia jegyzet)

Az *in vitro* módszerek egyik szemléletes példája az ún. Shell-less kultúra. Ennek a technikának a lényege, a tyúk embrió héj nélküli keltetése. A módszer kiválóan alkalmas a tyúk organogenezisének nyomon követésére. (Savita Datar, Ramesh R. Bhone, 2005)

In vivo toxikológiai módszerek közé soroljuk a heveny-, idült-, vízi élőlények-, házi állatok toxikológia vizsgálatát, vadtoxicitási- és a méhtoxicitási vizsgálatokat. Az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer a madár teratológia. (Várnagy, 2010)

3.9 Teratológia

Teratológia fejlődési rendellenességekkel foglalkozó tudomány, amely magába foglalja mindazon örökletes és nem örökletes zavart, amelyek makroszkópos vagy mikroszkópos szinten, morfológiai és biokémiai elváltozásokban nyilvánulnak meg. (Budai Péter)

Fontos a teratológia kapcsán egy fogalmat tisztázni, méghozzá a teratogén jelentését. Teratogén szó alatt, olyan anyagot vagy hatást értünk, amely a fejlődő magzatot károsítja, fejlődési rendellenességet okoz.

Teratogén hatású anyagok átjutnak a placentán és a fogamzástól a születésig károsíthatják a magzat fejlődését. Az expozíció következményei attól függenek, hogy az a terhesség melyik időszakában következett be. Ember esetében az első két hét során bekövetkező expozíciók valószínűleg az embrió halálát okozzák. Az embrió a 2. – 12. hét közötti periódusban a legérzékenyebb a teratogén hatásokra. A főbb fizikai fejlődési rendellenességek (testi hibák) ekkor, a szellemiek pedig többnyire a 20. héttől a születésig alakulhatnak ki. A környezetben megtalálható xenobiotikumok közül teratogén hatásúak az ólom, a metil-higany, az etilén glikoléterek, az etanol, a toluol, a szén-diszulfid, a hexaklor-benzol és a poliklórozott-bifenilek. (Szücs, 2002)

Teratológia kísérleteket már a 1920-as években is végeztek sertéseken. Norman McAlister Gregg 1941-ben fedezte fel, hogy az anya terhesség alatti rózsahimlője súlyos fejlődési rendellenességeket okoz. Ez a felfedezés új lökést adott a kutatásoknak. Igazi áttörést a Contergán-katasztrófa jelentette a hatvanas évek elején. NSZK-ban három év alatt több száz végtaghiányos gyermek született amiatt, hogy az anya terhessége alatt Contergan nevű nyugtatót szedett. Ez a katasztrófa a fokozottan ellenőrzött gyógyszergyártáshoz, ill. a teratológiai kísérletek fejlődéséhez vezetett. (Antalóczy, Budai Péter)

3.10 Teratológiai vizsgálatok madáron

A madárembrió teszt Daresté nevéhez fűződik, aki megállapította, hogy a házityúk-embrió hátrányai ellenére jól használható tesztszervezetként a toxikus hatások megítélésére. (Daresté, 1891)

A madár tesztek előnyei:

- nagyszámú termékeny tojás rendelkezésre áll
- madárembrió gyorsan növekszik
- madárembrió érzékeny a kémiai és a fizikai hatásokra
- könnyű beavatkozások (kezelések, vérvétel)
- biológiai kutatásban széles körben alkalmazott élő (in vivo) – (in ovo) rendszer
- a madár(tyúk)embrió jó modellrendszer a növekedés, a szöveti differenciálódás és a szervfejlődés tanulmányozására morfológiai, biokémiai és funkcionális szempontból
- sok tekintetben csaknem hasonló morfológiai és funkcionális szempontok érvényesülnek, mint az emlősök fejlődésében
- kémiai környezetterhelés toxikus hatásának megítélése
- olcsó kivitelezés, kevés munkaerő és berendezés szükséges
- jól reprodukálható rendszer
- keltetés előtt, vagy a keltetési szakasz elején, vagy közepén történt kezelés után a növényvédő szer hatására az embriók érzékenyen reagálnak
- az inkubáció alatt a fejlődő egyedben összességében jelennek meg a fejlődés és a szöveti differenciálódás problémái
- a toxikus hatások közvetlenül jelentkeznek, a hatóanyagoknak nem kell átjutniuk a placentán

HÁTRÁNYAI is ismertek:

- nem lehet megbízható teratológiai következtetéseket levonni az emlősökre, beleértve az embert is
- a kapott eredmények csak a madár embriókra vonatkoztathatók, más fajokra csak megfontolások után extrapolálhatók

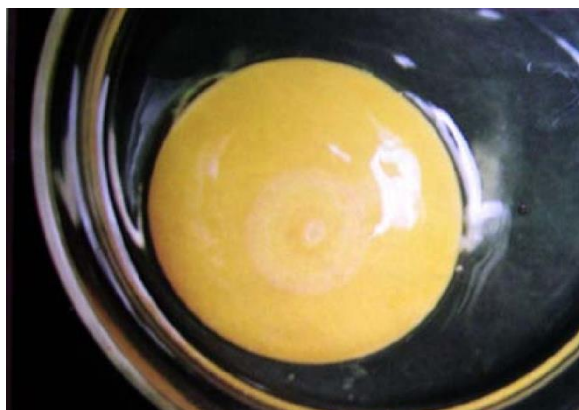
- gyógyszerek teratogén hatásának vizsgálatára nem ajánlják, mert a madárembrió túl érzékeny a vegyi anyag hatására, valamint eltérőek az anatómiai és élettani összefüggések mint a vemhes nőstény állat és a magzat között (Várnagy, 2010)

VIZSGÁLATOK CÉLJA:

- xenobiotikumok toxikus hatásának megállapítása laboratóriumi modell állatokon (fürj, tyúk), vagy nem cél állat embriókon (fürj, fácán)
- egységes vizsgálati módszer kidolgozása az alap kutatás és/vagy a növényvédő szer engedélyezési eljárás számára
- ökotoxikológiai alapadatok szolgáltatása
- új vizsgálati módszerek alkalmazása (Várnagy, 2010)

3.11 Tyúk egyedfejlődése

A keltetés első három napjára az intenzív növekedés jellemző. Tojás lerakás idejére az embrió morula állapotban van. **(12. ábra)**

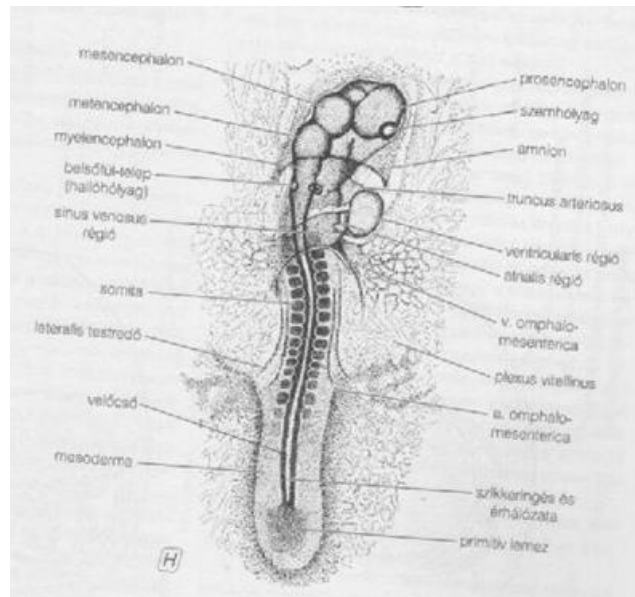


12. ábra Termékeny házityúk tojás

(Forrás: HUNT és REINHART, audiovizuális prezentáció)

A madarak barázdálódása a csírákorong területén indul meg, így discoblastula keletkezik. A fejlődő embrió néhány sejtsor vastagságú korong alakú képződményt mutat. Az endoderma és az ectoderma szétválását követően megindul a gastrulatio. Az ectodermából létrejön a mesoderma. (Zboray, 2007) A későbbiek folyamán ebből a három alaprétegből alakulnak ki a különböző szövetek és szervek. A keltetés 21. órájában az őscsík mindkét oldalán megjelennek a szomiták (gerinchúri összelvények), amelyekből a későbbiekben fejlődik ki az izomzat és a csontozat. Az első nap végére megjelennek az emésztőszervek, a gerincoszlop, a fej és az idegrendszer kezdeményei.

A második nap megkezdődik a szív és a véredények, a hajszálerek, a kiválasztó-, halló- és szaglószervek kezdeményeinek fejlődése. Megközelítőleg a keltetés 42. órájában megindul a szívverés és a véráramlás. Az idegrendszer kezdeményei létrehozzák a velőcsövet, amelynek első szakaszából az agy, hátulsó szakaszából pedig a gerincvelő fejlődik ki. **(13. ábra)**



13 ábra. Háromnapos embrió, jól fejlett szikkingéssel. (Forrás: Zboray, 2007)

A harmadik napon az allantois belenő az extraembrionális testüregbe. Az allantois erei a köldökvénák és a köldök artériák, amelyek biztosítják az embrionális keringést. Megjelennek az orr, a lábak, a fark, majd a szárnyak kezdeményei. A 22. testszelvénypár megjelenését követően az újabbak felismerése egyre nehezebbé válik.

A negyedik napra minden testrész megjelenik, a keringési rendszer szemmel jól látható. Az első négy napban az embrió táplálkozása fokozatosan megváltozik, áttérve az egyszerű szénhidrátokról az összetettebb fehérjékre és zsírokra.

Az ötödik napon az amnion folyadékkal telik meg, megvédve így az embriót a mechanikai sérülésektől. Differenciálódik az első és a hátsó végtag, az ujjak, a szaporítószervek és az agyvelő

A hatodik és a tizedik nap között az embrió felveszi végleges formáját. A hetedik naptól megindul az allantois légzés, a nyolcadik naptól már láthatóak a tollkezdemények. Az embrió testén kívül kialakult szív a testüregbe záródik, az embrió a továbbiakban a szik állományával a köldökön keresztül, a vérkeringés útján tart kapcsolatot (BOGENFÜRST, 2004).

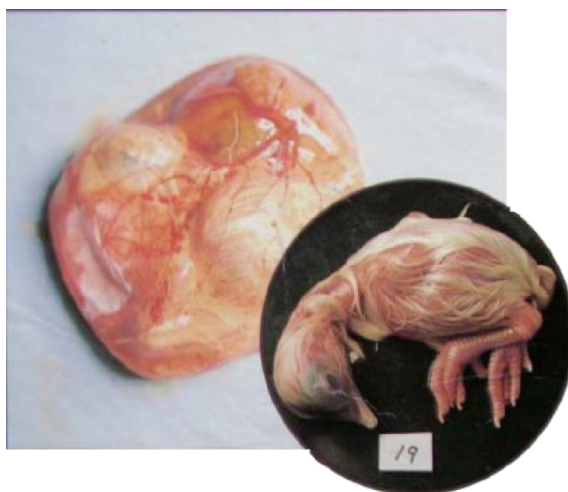
A tizenegyedik és tizenkettedik nap között a mellizmok és a végtagok izmai erőteljesen növekednek a végtagokkal és a törzssel egyetemben (**14. ábra**). A csontosodási folyamathoz szükséges kalcium felvétele a tizenkettedik napra valósul meg. A chorioallantois membrán (CAM) képessé válik a bikarbonát formájában történő kalcium szállítására a tojáshéj és az embrió között, biztosítva ezáltal a megfelelő növekedést (DIECKERT és mtsai, 1992). A tizenharmadik napra az embrióban kifejlődnek a szervek.



14. ábra Házityúk embrió a keltetés tizenkettedik napján

(Forrás: HUNT és REINHART, audiovizuális prezentáció)

A tizenhatodik naptól a szarukezdemények (csőr, karmok, lábpikkelyek) tisztán felismerhetőek. A tizenhetedik-tizennyolcadik napig az embrionális növekedés dominál.



15. ábra Házityúk embrió a keltetés tizenkilencedik napján

(Forrás HUNT és REINHART, audiovizuális prezentáció)

A tizenkilencedik napon (**15. ábra**) a sziktömlő megkezdzi a behúzódást a hasüregbe, majd a huszadik napon befejeződve kezdődik meg a köldögzáródás. A huszonegyedik napra a tojáshéj törékenyebbé válik, mert a mész egy része felszívódott és a csontokban rakódott le (BOGENFÜRST, 2004).

4 Módszerek

4.1 Madárteratológia

Kísérleti állatok:

A vizsgálat során 39 házityúk tojást használtam fel. A termékeny tojásokat a Bábolna TETRA Kft-től szereztük be.

4.1.1 Tojások keltetése

A megtermékenyített tyúktojások azonos fajtájú tyúktól származtak. A tojáskeltető egy egyszerű házi használatra szánt berendezés volt (**16.ábra**), automatikus tojásforgatóval felszerelve. A tojásokat 38°C-on, 70% páratartalom mellett keltettem 19 napig.



16. ábra Tojáskeltető

4.1.2 Kezelések időpontja és módja

Kísérletemben a kezelés időpontjával a keltetés megkezdésének napját (0.nap) választottam. A leginkább elterjedt kezelési mód a vizsgálni kívánt anyag, közvetlenül a légkamrába (a megtermékenyített tojásba) történő injektálása. (Lutz, 1974; Meiniel, 1977; Várnagy, 1995; Fisher M., 1983) A vizsgálni kívánt anyagokat (desztillált víz (kontroll), 0.5 M réz-szulfát és 1000x higítású Bulldock 25 EC) sterilre szűrtem, majd 0.1 ml-t mind a háromból kimértem. Az injektálást megelőzően a légkamra felett , a tojás héján át lyukat fúrtam, majd ezt követően beinjektáltam az oldatot. Végezetül a lyukat parafinnal lezártam. Ezeket a műveleteket egy steril fülkében végeztem. A tojásokat véletlen sorrendben osztottam a különböző kezelt csoportokba és helyeztem a keltetőbe.(**17. ábra**)



17. ábra Keltetés kezdete

4.1.3 Feldolgozás

A 19. napon a tojásokat felnyitottuk, az embriókat kloroformmal túllattuk, lemértük a súlyukat, majd alaposan megvizsgáltuk őket fejlődési rendellenességeket keresve. (18. ábra)



18. ábra A csirkeembriók feldolgozása

4.1.4 Statisztikai értékelés

A kezelt csoportok közötti összehasonlítást a letalitás esetében χ^2 teszttel, a súlyok esetében Mann-Whitney nem-parametrikus teszttel végeztük.

4.2 Shell-less kultúra

Kísérleti állatok:

A vizsgálat során felhasznált tojást szintén a Bábolna TETRA Kft-től szereztük be.

4.2.1 Keltetés

A keltetést egy egyszerű házi használatra szánt berendezéssel végeztem. (16. ábra) A tojásokat 38°C-on, 70% páratartalom mellett keltettem. 48 óra elteltével elkészítettem a „héj nélküli” embriókultúrát.

4.2.2 Előkészítés

Az egész kísérletet steril körülmények között végeztem. A keltetőből kivett tojást 25-30percig hűlni hagytam, majd 70%-os alkohollal áttöröltem a fertőződés elkerülése végett. A megtermékenyített tojáson a légkamra felett egy repedést ejtettem, majd olló segítségével óvatosan egy 2-3cm sugarú lyukat készítettem. A tojás tartalmát nagyon óvatosan a steril Petri-csészébe helyeztem, anélkül hogy az embrió károsodna. A Petri-csészét lefedtem és a

keltetőbe helyeztem. A keltető felé egy kamerát helyeztem és Time lapse technikával figyelemmel követtem az embrió fejlődését.

5 Eredmények

5.1 Madárteratológia

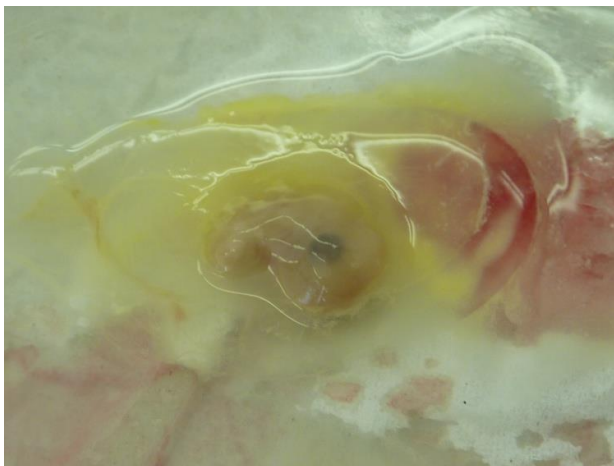
5.1.1 Embriómortalitás

Kontroll:

A desztillált vízzel kezelt kontroll csoportban a feldolgozás folyamán 13 tojásból 1 tojásban nem találtam embriót.

Réz-szulfát:

A 0,5 M-os réz-szulfát oldat a kontroll csoporthoz képest jelentős eltéréseket okozott.. 13 tojásból 8 tojásban volt különböző stádiumban elpusztult embrió. Az **19. ábra** jól látható, hogy az elpusztult embrió 3-4 napos volt. A **20. ábra** szintén egy réz-szulfáttal kezelt tojás volt. Ez a csirke 15 napos lehetett. (testtömegét és a fejlettségét tekintve)



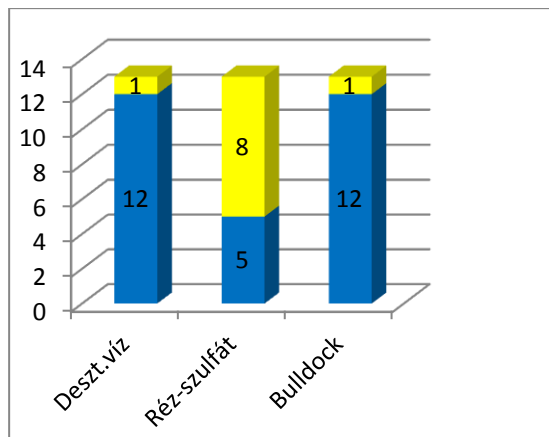
19. ábra 3-4 napos elpusztult embrió



20. ábra 15 napos embrió

Bulldock 25 EC:

A cyfluthrinnal kezelt csoport megkülönböztethetetlen volt a kontrolltól. 13 tojásból 1 tojásban nem találtam embriót. (21.ábra)



21.ábra Túlélés (kék), letalítás (sárga) megoszlása

5.1.2 Fejlődési rendellenesség

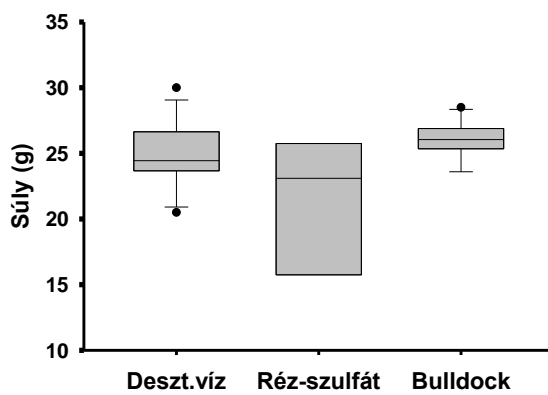
Fejlődési rendellenességet egyedül a réz-szulfátos csoportban találtam. Egy csirke esetében lehetett megfigyelni az ujjak „összenövését”.(22.ábra) Az ujjak szétválásának hiánya a fejlődésbeli lemaradottságnak tudható be.



22. ábra Fejlődésben lemaradott csirke

5.1.3 Tömeg

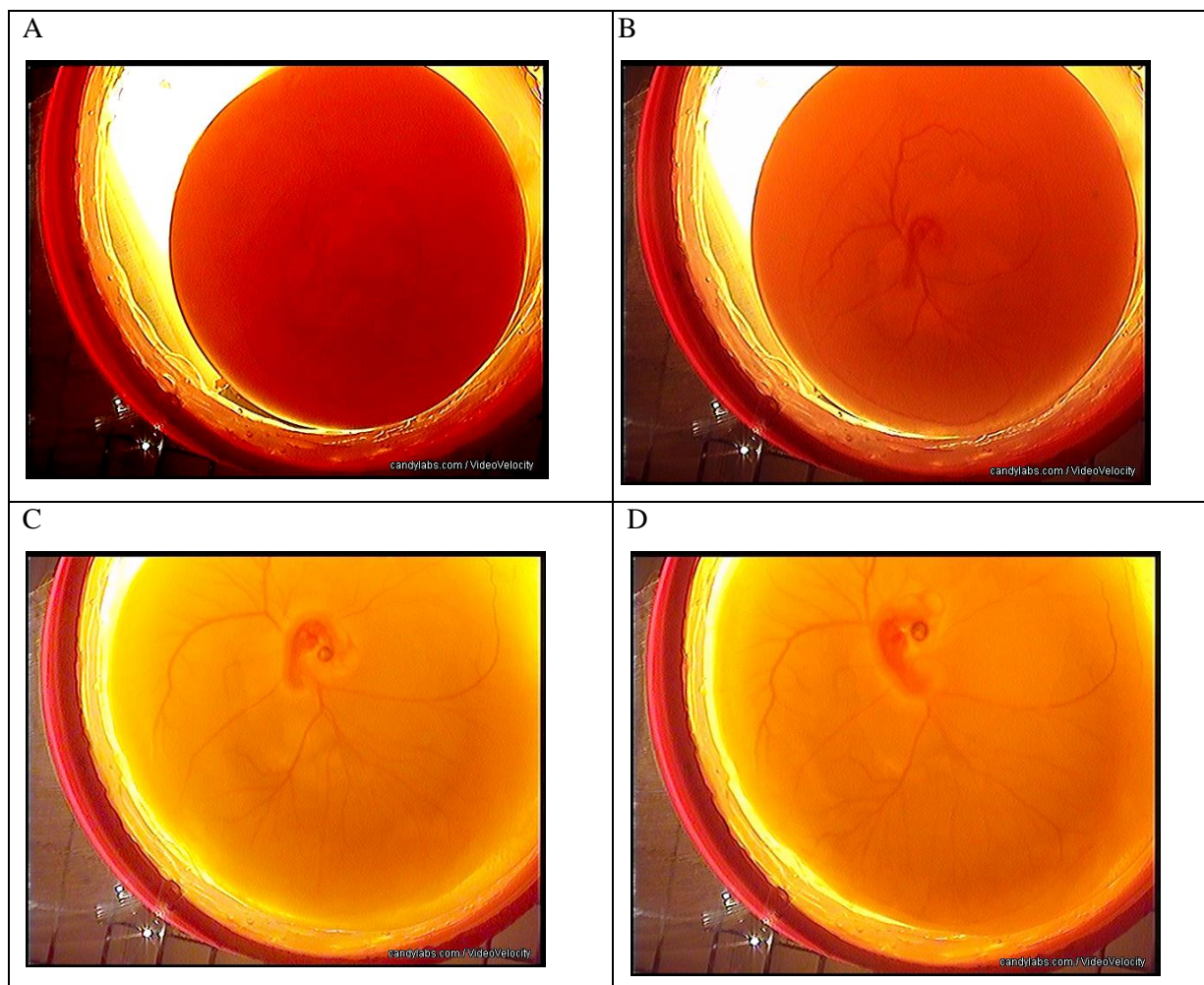
Az embriók median súlya kisebb volt a réz-szulfáttal kezelt csoportban mint a kontrollban, de a hatás nem volt szignifikáns (Mann-Whitney teszt). **(23.ábra)**



23. ábra Súly megoszlása

5.2 Shell-less

Shell-less kultúra esetében azt tapasztaltam, hogy az embrió a hatodik napon elpusztult. Az első 4 napban a keringésrendszer, a szívverés fejlődése szabad szemmel látható volt. **(24. ábra)**



24.ábra Shell-less kultúra eredménye A:3.napos embrió; B:4 napos embrió, jól látható keringési rendszerrel; C:5 napos embrió; D:6 napos embrió

6 Megvitatás

Célkitűzéseim között szerepelt a háztyúk embrió teratológiai vizsgálata. A madárteratológia a toxikológia módszerek egyik legelterjedtebb módszere. Számos előnye – mint például az embrió gyors növekedése, jól reprodukálható rendszer, könnyű beavatkozási módok - miatt alkalmazzák széles körben. Hátárnaként tartják számon, hogy nem lehet megbízható teratológiai következtetéseket levonni az emlősökre, (beleértve az embert is), valamint gyógyszerek teratogén hatásának vizsgálatára nem ajánlják, mert a madárembrió túl érzékeny a vegyi anyagok hatásaira. A teratológiai módszer mellet alkalmaztam egy olyan eljárást, mellyel szemmel lehetett követni az embrió fejlődését. Ez volt a Shell-less kultúra. Célunk az volt, hogy kidolgozzuk a héj nélküli kultúrát, amely kiválóan alkalmas az

embrionális fejlődés korai szakaszában történő elváltozások megfigyelésére. A kultúra négy napig működött, az eredményesebb cél elérése érdekében, további vizsgálatok szükségesek.

Az általam elvégzett madárteratológiai vizsgálat arra irányult, hogy a növényvédelemben alkalmazott készítmény, a Bulldock 25 EC rovarölő szer esetleges egyedi embriókárosító hatását feltárja. A vizsgálat során 3 csoportot készítettünk. Az egyik csoport a kontroll volt, a második réz-szulfátos csoport, harmadik csoport pedig az általam vizsgálni kívánt anyaggal(cyfluthrin) kezelt csoport. A kontroll csoportban alkalmazott desztillált víz, nem hatott az embriók fejlődésére, ezzel szemben a réz-szulfát igen. Ebben a csoportban volt a legnagyobb a letalitás, illetve testtömegbeli és fejlődésbeli lemaradottság. A vizsgálni kívánt vegyszer a Bulldock 25 EC az ajánlott permetezési hígítás nem okozott fejlődésbeli rendellenességet, illetve halálozást a madár embriókban.

7 Köszönetnyilvánítás

Köszönöm a Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ Állattani Tanszékének, valamint konzulensemnek Molnár Péternek az izgalmas témát és a segítséget a szakirodalom kutatásában.

Köszönetemet szeretném nyilvánítani Orbán Attilának, Bábolna TETRA Kft, a keltetni való tojások biztosításáért.

Nem utolsó sorban, köszönöm Szüleimnek a lehetőséget, hogy a tanulhattam, illetve Páromnak és Barátaimnak, hogy mellettem álltak.

8 Irodalomjegyzék

- Balla L. (szerk.), (1999): Mérgezések és első orvosi ellátásuk. Toxikológiai vademecum. Melania Kiadó. Budapest. 138. oldal
- Bogenfürst F. (2004) A keltetés kézikönyve. Gazda kiadó. Budapest. 42-63
- Bordás 2006/A: Dr. Bordás Imre: Toxikológia jegyzet Országos Kémiai Biztonsági Intézet 2006
- Bordás 2006 /B: Dr. Bordás Imre: Veszélyes anyagok, készítmények Pesticidek Országos Kémiai Biztonsági Intézet 2006 Budapest
- Buday-Sántha Attila (2006): Környezetgazdálkodás, Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs
- Dareste C. (1891): Production artificielle de monstrosités. Reinwald et Cie, Paris. 1-590
- Darvas B. (1999): A piszkos tizenkettő és felebarátai. 1. Egy Nobel-díjas: a DDT. Élet és Tudomány, 54: 1350-1352.
- Dési Illés (2002): Környezetegészségtan, JGYF Kiadó, Szeged
- Dieckert J.W., Dieckert M. C., Creger C. R. (1992): The avian shell membrane specialized extracellular matrix: implications for differentiation of the chorioallantoic membrane. SAAS Bulletin. Biochem. and Biotech., 5: 30-37
- Dowdy R. P. (1969): Copper metabolism. The American Journal of Clinical Nutrition, 22 (7): 887-892
- Fisher M., Schoenwolf GC. (1983): The use of early chick embryos in experimental embryology and teratology: improvements in standard procedures, 27(1): 65-72
- Halogénezett aromás gyűrűt tartalmazó POP vegyületek biodegradációja- Dr. Kukolya József, Dr. Szoboszlai Sándor, Dr. Kriszt Balázs, Cserháti Mátyás, Hánh Judit, Raska Gábor 2009 Agruniver Holding Kft,

- Hunt E. C., Reinhart B. S., Development of The Chicken Embryo. Audio visual presentation. Jamesway Co, Univesity of Guelph, Ontario Ministry of Agriculture and Food, Guelph.
- Lutz H. (1974): Pesticides et reproduction chez les homeothermes. Bull. Soc. Zool. France, 1: 49-50.
- Machovich R. (2001): Az aminosavak anyagcseréje. Porfirin-anyagcsere. In: Ádám V. (szerk.): Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó. Budapest. 220-268. old.
- Mandl J. (2001): Bioenergetika. Energiatermelés és -raktározás az anyagcsere során. In: Ádám V. (szerk.): Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó. Budapest. 55-91. old.
- Meiniel R. (1977): Teratogenesis of axial abnormalities induced by an organic phosphorus insecticide (parathion) in the Bird embryo. Wilhelm Roux's Arch., 181. 41-63.
- Peterson M. E., Talcott P.A. (2001): Small animal toxicology. W. B. Saunders Company. Philadelphia. pp. 469-473
- Prasad A. S., Oberlesa D., Rajasekran G. (1970): Essential Micronutrient Elements. Biochemistry and Changes in Liver Disorders. The American Journal of Clinical Nutrition, 23 (5): 581-591
- Savita Datar, Ramesh R. Bhonde (2005): Shell-Less Chick Embryo Culture as an Alternative in vitro Model to Investigate Glucose-Induced Malformations in Mammalian Embryos. RevDiabetStud ,2(4):221-227
- Seprős I. (szerk.), (2002): Nővényorvosi (permetezési) tanácsok. Szaktudás Kiadó. Budapest. 248. old.
- Simon F. (1981): Állatorvosi toxikológia. Állatorvostudományi Egyetem. Budapest.80-83., 100-103. old.
- Szücs Sándor (2002): Környezet toxikológia. DEOEC Népegészségügyi Iskola Megelőző Orvostani Intézet
- Várnagy L. (1995): Teratogenicity testing of pesticides on bird fetuses. Hung.Agr.Res., 2. 30-33
- Várnagy L. (2010): Az OECD toxikológiát érintő tevékenysége. 2010. Január 8-i , Előadásának óravázlata :

Várnagy L., Budai P. (2003): A mezőgazdasági vegyi anyagok higiénája és toxikológiája. Veszprémi Egyetemi Kiadó. Veszprém. 70-83.old.

Zboray G. (2007): Összehasonlító anatómiai praktikum II. Nemzeti Tankönyvkiadó. Budapest 158-162 old.

Antalóczy: http://edok.lib.uni-corvinus.hu/213/1/MT_17_Antal%C3%B3czy.pdf (2013.05.05)

ATSDR: <http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/index.html>(2013.05.10)

Biotechnológia

jegyzet:

<http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/mezgaz/BiotechManager/5%20Sejt-%E9s%20sz%C3%A9tveteny%E9sz%E9s.pdf> (2013.04.26)

Budai Péter: http://www.dietvet-holistic.hu/download/Budai_Terato_2010.pdf (2013.05.05)

Chemical Watch Factsheet: http://www.beyondpesticides.org/pesticides/factsheets/Structural%20Fumigants_sulfuryl_fluoride_&_methyl_bromide.pdf (2013.05.10)

Cyfluthrin:

http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/2006_rep/Cyfluthrin.pdf
(2013.05.11)

Farmmix: www.farmmix.hu/upload/documents/biztech/BULLDOCK%2025EC.doc
(2013.05.02)

Gazdabolt: <http://www.gazdabolt.hu/T05332-Bulldock-25-EC-0-25-1> (2013.04.24)

Környezetvédelmi információ: <http://www.korinfo.hu/drupal/keptar/6953> (2013.05.08)

National Geographic: http://www.ng.hu/Civilizacio/2006/08/A_DDT_visszater (2013.05.05)

OKBI: <http://www.okbi.hu/ellenmerreg/csomag3.pdf> (2013.05.02)

WIKIPEDIA: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Peszticid> (2013.04.24)

WIKIPEDIA 2. : <http://hu.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9z-szulf%C3%A1t> (2013.05.05).