Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Nagy jelentőséggel bíró mikotoxinok DNS-re és a károsodást javító enzimrendszer egyes génjeinek expressziójára gyakorolt hatásának vizsgálata tyúk és ponty fajokban

Szabó Rubina Tünde

Gödöllő

2022

A doktori iskola

megnevezése: Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola

tudományága: Állattenyésztési tudományok

vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, az MTA rendes tagja
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Takarmánybiztonsági Tanszék

Témavezetők: Dr. Kovács-Weber Mária
egyetemi docens, Ph.D.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus, Állattenyésztési Tudományok Intézet, Állattenyésztés-technológiai és Állatjólléti Tanszék

Dr. Kovács Balázs
tudományos főmunkatárs, Ph.D.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Molekuláris Ökológia Tanszék

....

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

.....

A témavezető jóváhagyása

1. BEVEZETÉS

A mikotoxinok, mint a mikroszkopikus penészgombák másodlagos anyagcseretermékei a mindennapi szántóföldi munka, takarmányozás és élelmezés színterén jelen vannak, ezzel adva számos feladatot a szakembereknek. Nagyszámú információ érhető el hatásaikról, melyek különféle nem specifikus tünetek kialakításával hozható összefüggésbe. A legtöbb esetben a mikotoxinok rendelkeznek sejt és szövet szinten is specifikus károsító tulajdonsággal. Egyik gyakori hatás a lipidperoxidáció, az oxidatív stressz kialakítása és az antioxidáns védekező rendszer gátlása, mely igen jellemző a trichotecénvázas mikotoxinokra (DON, T-2), illetve az aflatoxinra egyaránt. A kialakuló oxidatív stressz egyik ártalmas hatását a DNS szintjén is tapasztalhatjuk, ám ezek kapcsoltságára, együttes vizsgálatára még igen kevés kísérlet irányult (Zhang et al. 2009, Awad et al. 2012). Ezért is lényeges a mikotoxinok hatásának vizsgálatát kiterjeszteni a DNS-re is.

A DNS az élet építő egysége, az élet fenntartásának alapja, a biológiai funkciók kialakításához nélkülözhetetlen. Bármilyen módosítása, módosulása az élet folytonosságának megakadásához, a genetikai információ megváltozásához vezethet. A DNS károsodását okozhatják belső elváltozások, mint az öregedés, illetve külső behatások, mint xenobiotikumok, kemoterápiás szerek vagy a takarmányból, élelmiszerekből felvehető mikotoxinok is (Dizdaroglu 2012). Genotoxikus anyagok vizsgálata során általánosan elterjedt módszer a comet assay, mely alkalmazható szinte minden fajban, minden szövettípus esetében. Előnyei mellett jócskán sorakoznak hátrányai, limitáló tényezői, amikkel én is szembesültem vizsgálataim során (Klaude et al. 1996, Olive & Banáth 2006). A LORD-Q PCR eljárást eredetileg humán sejtvonalak vizsgálatára fejlesztették ki. Célom volt ezen eljárás adaptálása és felhasználása tyúk, illetve ponty fajok mikotoxin okozta DNS károsodásának vizsgálatára.

A szervezet mindennap küzd a DNS javításáért, mivel természetes körülmények között is naponta 10000 DNS sérülés következik be egy sejtben becslések szerint (Carusillo & Mussolino 2020). Ezen károsodások kijavításáért, kiküszöböléséért felelős a DNS javító rendszer, mely számos útvonalon keresztül végzi az adott károsodásra specifikus javítást.

A DNS károsodás és az azt javító mechanizmusok kapcsolatáról rendelkezésre álló ismereteink meglehetősen hiányosak, pedig ezen folyamatok együttes vizsgálata adhat pontos képet a molekuláris szinten lezajló változásokról. Így vizsgálataim alatt megfogalmazott célokon keresztül kiemelten foglalkoztam ezen összefüggések felderítésével.

1.1. CÉLKITŰZÉSEK

Doktori munkám során célom volt felmérni a DON, T-2, aflatoxin B1 és szterigmatocisztin mikotoxinok DNS károsító hatását ponty, illetve T-2, aflatoxin B1 és a szterigmatocisztin mikotoxinokét tyúk fajban.

A vizsgálatok elvégzéséhez egy, mind a négy toxin hatásának vizsgálatához igazodó, objektív, hatékony és időben is előnyös, PCR alapú módszer adaptálása és alkalmazása is célom volt mindkét faj esetében, melynek részeként a kiválasztott módszer alkalmazhatóságát össze kívántam hasonlítani a leggyakrabban alkalmazott comet assay-vel, annak tyúk májra történő adaptációját követően.

Emellett célom volt feltérképezni a DNS javító mechanizmusok változását, ezzel képet kapni a vizsgált mikotoxinok DNS javító génekre gyakorolt hatásáról. Ennek okán célom volt a DNS javításban szerepet játszó gének kiválasztása ponty és tyúk fajok számára, majd a géneket vizsgáló rtPCR optimalizálása, illetve a legmegfelelőbb belső kontroll gén kiválasztása.

További célom volt az irodalomban közölt aflatoxin B1 és szterigmatocisztin 10x-es hatáskülönbségének megerősítése vagy cáfolása.

A tyúk fajban ezen vizsgálatokat kiegészítve célom volt szövettani vizsgálatokkal is alátámasztani az aflatoxin B1, illetve szterigmatocisztin májra gyakorolt káros hatásait.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Tyúk fajban végzett kísérletek elrendezése a comet assay vizsgálat során

2.1.1. Mikotoxin termeltetése, mikotoxin tartalma és kísérleti állatok

A T-2 toxin *Fusarium sporotrichoides* NRRL 3229 P törzs által kukoricadara szubsztráton került termeltetésre Fodor *et al.* (2006) módszere szerint. Az állatok közforgalomban kapható, a Vitafort Zrt. által gyártott intenzív brojler indító teljes értékű takarmánykeveréket fogyasztottak dercés formábanA kísérleti csoportok takarmányainak mikotoxin szennyezettségének mértéke a következőképpen alakult: kontroll <0,02 mg/testtömeg kg, THT1 csoport 0,127 mg T-2 + 0,088 mg HT-2/ testtömeg kg, THT2 csoport 0,235 mg T-2 + 0,149 mg HT-2/ testtömeg kg, THT3 csoport 0,989 mg T-2 + 0,57 mg HT-2/ testtömeg kg.

A kísérlet során négy csoport került kialakításra Cobb 540 brojler kakasból, csoportonként öt állattal. Az etetési kísérlet állatkísérleti engedéllyel történt (NÉBIH Pest Megyei Élelmiszerlánc Biztonsági és Állategészségügyi Igazgatóság, XIV-I-001/1880/2012).

2.1.2. Comet-assay vizsgálat

A májdarabokat 100-szoros arányban hígítottam foszfát pufferrel. A pozitív kontroll minták kialakításához hidrogén-peroxidot (10 µl, 3% v/v) használtam fel. Először 0,8 % (w/v) normál agarózt készítettem, majd ebbe az agarózba merítettem bele a tárgylemezeket. Miután ez az agaróz réteg megszilárdult, 75 µl 1% (w/v) alacsony olvadáspontú agarózt juttattam a lemezekre, illetve azonos mennyiségű sejtszuszpenziót. Ezt követően fedőlemez került a tárgylemezekre és 5 percre jégakkura helyeztem azokat az újabb agaróz réteg megszilárdulásáig. A fedőlemez eltávolítását követően egy harmadik réteget vittem fel a tárgylemezre. A tárgylemezeket egymás mellé helyeztem egy üvegkádban és lízisoldatot öntöttem rájuk, mely oldatban minimum egy óráig voltak a tárgylemezek 4°C-on. A lízisoldatban eltöltött idő után a tárgylemezek elektroforézis kádba helyeztem, amit elektroforézis pufferrel töltöttük fel a lemezek elfedéséig. A 40 perc várakozási idő után az elektroforézis következett (20 V, 300 mA, 24 perc. A lecsepegtetett lemezekre 50µl etídium-bromidos festő oldatot juttattam, majd fedőlemezzel fedtem. Mikroszkóp alatt UV fényben vizsgáltam a keletkezett üstökösöket 20x nagyítás mellett. A vizsgálat során minimum 150 sejt került kiértékelésre minden csoportban. Manuális kiértékelést CometScore (TriTek) programmal végeztem el és a sejtmagtól elvándorolt DNS százalékos hányadát vettem figyelembe. Vizuális kiértékelést is, mely során az üstökösöket egyesével minősítettem egy 0-4 közötti skálán a farok részben jelen

lévő DNS fragmentumok mennyisége alapján. Minden csoportból legalább 100 sejtet vizsgáltam.

2.2. Ponty fajban végzett kísérletek elrendezése a LORD-Q PCR vizsgálat során

A T-2 toxint a *Fusarium sporotrichioides* NRRL 3299 törzs, míg a deoxinivalenolt (DON) a *Fusarium graminearum* NRRL 5883 törzs segítségével állították elő (Fodor *et al.* 2006). A kísérletben kereskedelmi forgalomban lévő Aqua *Garant* Classic™ takarmány került felhasználásra. A takarmányok mikotoxin tartalma a következőképpen alakult: kontroll <0,02 mg/testtömeg kg, T-2 mikotoxin csoport 4,11 mg T-2 + 0,49 mg HT-2/testtömeg kg, DON csoport 5,96 mg DON + 0,33 mg 15-acetil DON/testtömeg kg. A vizsgálathoz egynyaras hibrid pontyokat (Szarvasi P34, n=144) használtam. *Hepatopancreas* mintát az 1., 2. és 3. héten vettem.

2.3. Ponty fajban végzett kísérletek elrendezése a génexpressziós vizsgálat során

Az aflatoxin B1 termeltetése Dobolyi és munkatársai (2013) által izolált *Aspergillus flavus* törzs (ZT80) által ment végbe kukoricaőrleményen. A magas (99,0±1,0%) tisztaságú szterigmatocisztint Romer Labs Diagnostic (Tulln, Austria) cégtől szereztük be. Az aflatoxin B1-et tartalmazó kultúrát belekevertük a kereskedelmi forgalomban lévő Aqua *Garant* Classic™ takarmányba. A takarmányok mikotoxin tartalma a következőképpen alakult: A csoport 0,4 mg aflatoxin B1/takarmány kg, Ster1 csoport 1 mg szterigmatocisztin/takarmány kg, Ster2 csoport 2 mg szterigmatocisztin/takarmány kg, Ster4 csoport 4 mg szterigmatocisztin/takarmány kg. A vizsgálatban egynyaras balatoni sudár pontyok vettek részt (n=96). *Hepatopancreas* mintát 8., 16. és 24. órákban.

2.4. Tyúk fajban végzett kísérletek elrendezése a LORD-Q PCR + génexpressziós vizsgálat során

Az aflatoxin B1 termeltetése *Astergillus flavus* törzzsel (ZT41), a szterigmatocisztin termeltetése pedig *Aspergillus creber* 2663 törzzsel történt (Dobolyi et al. 2013). A tisztított szterigmatocisztint Romer Labs Diagnostic (Tulln, Austria) cégtől vásároltuk. A takarmányok mikotoxin tartalma a következőképpen alakult: AFLATOXIN csoport 149,1 µg aflatoxin B1/takarmány kg, STER csoport 1590 µg szterigmatocisztin/takarmány kg, USTER csoport STER csoport 1570,5 µg szterigmatocisztin/takarmány kg. Mintavétel 1, 2, 3, 7. és 14. napokon történt.

2.5. Génexpressziós vizsgálatok

2.5.1. RNS tisztítás, cDNS írás

A teljes-RNS izolálását Trizol reagenssel végeztem Az izolált RNS tisztaságát, koncentrációját nanofotométer integritását 1,5%-os agaróz gél segítségével ellenőriztem. A minták OD 260/280 értéke legalább 1,8 volt. RevertAID reverz transzkriptáz enzim, illetve random hexamer primer felhasználásával hoztam létre cDNS-t (1000ng RNS/minta).

2.5.2. Kvantitatív qRT-PCR) vizsgálat és kiértékelés

Ponty fajban a belső kontroll gének (EF1α, β-aktin, 40S) (Hermesz & Ferencz 2009, Mráz 2012), illetve a célgének felsokszorozásához az OGG1 (Mustafa et al. 2015) és a HSP70 (Stolte et al. 2009) gének esetében az irodalomban található primereket alkalmaztam, míg a GADD45AA és a p53 génekhez terveztem primereket (Primer3Plus). Az alkalmazott PCR profilok a következők voltak: 12 perc 95ºC kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94ºC, 20mp 55ºC, 30mp 72ºC a HSP70 gén esetében. 12 perc 95ºC kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94ºC, 20mp 57ºC, 30mp 72ºC a GADD45AA és a p53 gének esetében, illetve 12 perc 95ºC kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94ºC, 20mp 60ºC, 30mp 72ºC az OGG1, az EF1α, a β-aktin és a 40S gének esetében.

Tyúk fajban 6 célgént (RAD51, REV1, BRCA2, XPA, GADD45, MSH6) és 3 belső kontroll gént (GADPH, β-aktin, UB) vontam be a kísérletbe. Az alkalmazott PCR profilok a következők voltak: 12 perc 95ºC kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94ºC, 20mp 59ºC, 30mp 72ºC a RAD51, a REV1, a BRCA2, az XPA, a GADD45, az MSH6, a GADPH, a β-aktin esetében. 12 perc 95ºC kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94ºC, 20mp 61ºC, 30mp 72ºC a az UB gén esetében.

Mindkét faj esetében a qRT-PCR reakciókat StepOnePlus™ Real Time PCR System készülékben hajtottam végre. A PCR reakcióhoz 5x Hot FirePol® EvaGreen® qPCR Supermix-et, 6,6 pM/µl primereket, illetve 40 ng templát cDNA használtam 10µl végtérfogatban.

A Ct értékeket a StepOne™/StepOnePlus™ szoftver (v 2.2) segítségével határoztam meg. A relatív kvantifikációt a Pfaffl módszer által számítottam ki (Pfaffl, 2001).

2.6. LORD-Q PCR vizsgálatok

A májmintákból származó teljes DNS-t MagAttract® HMW DNA Kit segítségével nyertem ki. Azon mintákat fogadtam el, melyek OD (optikai denzitás) 260/280 értéke legalább 1,8 volt. A LORD-Q PCR reakciókat StepOnePlus™ Real Time PCR System hajtottam végre. A PCR reakcióhoz 5x Hot FirePol® EvaGreen® qPCR Supermix-et, 6,6 pM/µl primereket, illetve 10 ng templát cDNA használtam 10µl végtérfogatban. Az alkalmazott PCR profilok a

következők voltak ponty faj esetében: 12 perc 95°C kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94°C, 20mp 59°C, 30mp 72°C a rövid fragment esetében, illetve 12 perc 95°C kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94°C, 20mp 59°C, 4perc 72°C a hosszú fragmenthez. Az alkalmazott PCR profilok a következők voltak tyúk faj esetében: 12 perc 95°C kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94°C, 20mp 59°C, 30mp 72°C a rövid fragment esetében, illetve 12 perc 95°C kezdeti denaturáció, majd 40 cikluson keresztül 10mp 94°C, 20mp 60°C, 3perc 40mp 72°C a hosszú fragmenthez. A DNS károsodás mértékét a léziók számában határoztam meg Rothfuss et al. 2010 képlete alapján.

2.7. Tyúk fajban végzett vizsgálatok - szövettani metszetek elkészítése, értékelése

Szövettani vizsgálat alá csoportonként három, azonos anatómiai helyről származó májmintát vetettünk, a metszetek az Állatorvostudományi Egyetem, Patológiai Tanszékén készültek el. A paraffinos blokkokból 3-4 µm vastagságú metszetek készültek. A metszetek elsődleges elbírálása céljából hematoxylin-eosin festést követően fénymikroszkóp segítségével került sor a szövettani elemzésre. A metszetek scannelése a Pannoramic MIDI II (3DHistech) scannerrel történt, a CaseViewer szoftver (3DHistech) segítségével, ami lehetőséget ad további nagyításokra, képrögzítésekre.

2.8. Statisztikai kiértékelés

A statisztikai elemzést az R 3.6.2. szoftverrel végeztem el (R Core Team, 2013). A LORDQ, illetve a génexpresziós vizsgálatok eredményei esetében egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) alkalmaztam Tukey-féle utóteszttel. A comet assay eredmények kiértékelésére nonparametrikus Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztam Tukey és Kramer (Neményi) utóteszttel. A szignifikancia-szint minden esetben $p \leq 0,05$ volt.

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

3.1. Comet assay eredmények – tyúk fajban végzett kísérlet

A CometScore® programmal végzett kiértékelés során szignifikáns különbséget állapítottam meg a kontroll és a pozitív kontroll csoportok között, továbbá a kontroll (K) és a THT1, illetve a THT2 kezelt csoportokhoz viszonyítva. A THT1 csoport rendelkezett a legnagyobb DNS % értékkel és szignifikánsan eltért a két kontroll, illetve a további két kezelt csoporthoz viszonyítva. A vizuális kiértékelés során a kontroll csoport statisztikailag különbözött a pozitív kontrolltól, illetve mindhárom kezelt csoporttól. A legkisebb pontszámmal a kezelt csoportok közül a THT2 csoport rendelkezett, mely szignifikáns mértékű eltérésnek bizonyult a THT1 és THT3 csoportokhoz képest. Rezar és munkatársai (2007) a kísérletemben szereplő THT3 csoporthoz hasonló dózis (1,5 mg T-2/ takarmány kg) mellett nem mutattak ki szignifikáns DNS fragmentációt csirke lépből származó leukocitákban. Ám nagyobb DNS % értéket mértek a farokban (16,75), mint a THT3 csoport értéke CometScore kiértékelés mellett. Ezzel ellentétben a THT1 (0,215 mg T2+HT-2/ takarmány kg), illetve a THT2 (0,384 mg T-2+HT-2 toxin/ takarmány) csoportok között szignifikánsan különböző DNS fragmentációt figyeltem meg kísérletemben.

3.2. Ponty LORD-Q PCR eredmények

Az első mintavétel alkalmával szignifikánsan megnövekedett a léziók száma mindkét kezelt csoportban a kontrollhoz viszonyítva ($p<0,001$). A DON és a T-2 mikotoxinnal kezelt csoport szignifikáns mértékben eltért egymástól, ugyanez a trend rajzolódott ki a 2. héten a kezelt csoportok között, illetve a kontroll értékéhez képest. A 3. hét alkalmával a léziók mennyiségében nem volt kimutatható szignifikáns különbség a kezelt csoportok és a kezelt-kezeletlen csoportok között ($p=0,164$). Az időbeni változások nyomon követésekor az 1. héten mért lézió mértéke szignifikáns módon csökkent a 2. hétre, mely már nem különbözött statisztikailag a 3. hét lézió mennyiségétől T-2 mikotoxinnal szennyezett csoport esetében. A DON mikotoxinos csoport esetében az 1., illetve a 3. hét lézióinak értékei tértek el egymástól statisztikailag, a léziók értékei lépcsőzetes csökkenést írtak le az idő előrehaladtával.

3.3. Ponty génexpressziós eredmények

Az **OGG1 gén** esetében a kontroll csoporthoz viszonyítva egyik vizsgált csoport génexpressziós értéke sem tért el szignifikánsan a 8. órában. A 16. órában legnagyobb génexpressziós értékkel az Afla csoport bírt. A 24. órában mind a négy kísérleti csoport génexpresszió értéke szignifikánsan eltért a kontrollétól, illetve egymáshoz viszonyítva is. Vizsgálatomban sem a 8., sem a 16. órában nem alakult ki szignifkáns OGG1 expressziós változás aflatoxin B1 vagy

szterigmatocisztin kezelés hatására. Liu és munkatársai (2018) szintén ezt az eredményt mutatták be 0,01 µM AFB1 koncentráció mellett humán máj sejtvonalban. Majd a 24. órában eredményeim szignifikáns expressziós növekedést mutattak az Afla és a Ster4 csoportokban. Guindon-Kezis és munkatársai (2014) szintén szignifikáns emelkedést mutattak ki a relatív OGG1 fehérje szintben 50 mg/kg AFB1 adagolás hatására egér tüdő és májszövetben egyaránt.

A **HSP70 gén** expressziós növekedést mutattam ki 8. órában a Ster1 és a Ster2 csoportokban, majd a 16. órában az Afla, illetve a Ster4 csoportokban. Szintén e gén kifejeződésében találtak emelkedést El Gendy és munkatársai (2020) textilipari területről származó *Trachyderma hispida* példányokban. 24. órában mért génexpressziós eredményeim mindegyik csoport esetében szignifikáns emelkedést mutattak. Kócsó és munkatársai (2021) 150 µg/patkány/nap zearalenon, 150 µg/patkány/nap fumonizin B1, illetve 30 µg/patkány/nap DON egyedüli és együttes kezelés esetében is szignifikáns növekedés mutattak ki 24 órát követően a HSP70 fehérje mennyiségében májszövetben.

p53 gén kifejeződésének vizsgálatakor a 8. órában csak a Ster1 csoport mutatott szignifikáns expresszió növekedést a kontroll csoporthoz viszonyítva. Nem volt kimutatható szignifikáns különbség a 16. órában. Majd a 24. órában az Afla, illetve a Ster4 csoportokban génexpresszió növekedés, a Ster1 és a Ster2 csoportokban szignifikáns csökkenés volt detektálható szignifikáns módon a kontrollhoz képest. A HSP70 és a p53 génexpressziója hasonlóan alakult eredményeim alapján a 8., illetve a 24. órában, ami megerősíti Yang és munkatársai (2009) meglátását, miszerint a HSP70 részese a p53 DNS javító útvonalának.

A **GADD45AA gén** kifejeződése esetében az Afla csoportban következett be szignifikáns csökkenés a 8. órában. A 16. órában nem történt szignifikáns változás, míg a 24. órában a kontrolltól mindegyik kezelt csoport szignifikánsan különbözött. Pontyok esetében a 8. órában a Ster4 csoportban figyeltem meg expresszió növekedést, de ez sem bizonyult statisztikailag igazoható mértékűnek. Génexpressziós emelkedést a 24. órában mértem a STER1 csoport kivételével. Li és munkatársai (2013) szintén GADD45α expressziós növekedését mutatták ki 1000 ng/ml DON koncentráció esetében egér pajzsmirigy sejtekben.

3.4. Tyúk fajban végzett vizsgálatok LORD-Q PCR eredményei

Az 1., a 2., illetve a 7. nap során mindhárom kezelt csoport szignifikánsan eltért a kontrolltól ($p<0,0001$), illetve egymástól is. Az 1. nap az aflatoxin B1-gyel, míg a 2. és 7. nap a szterigmatocisztinnel kezelt csoport rendelkezett a legtöbb lézióval. A 3. nap esetében az USTER csoport szignifikánsan tért el a kontroll, illetve a STER és az AFLATOXIN csoportokhoz képest. A kontroll statisztikailag különbözött a STER és az AFLATOXIN csoportoktól, melyek egymástól nem tértek el szignifikánsan. A 14. napi mintavételkor a kontroll

csoport szignifikánsan nem tért el a STER csoporttól ($p<0,166$), ám statisztikai mértékben különbözött az USTER és az AFLATOXIN csoportoktól ($p<0,001$).

Az aflatoxin B1 és a szterigmatocisztin toxicitásának összehasonlítása során az 1. napon az AFLATOXIN csoportban mértem a legnagyobb léziószámot. Ehhez hasonló eredményt kaptak Abd-Allah és munkatársai (1999), akik szignifikáns DNS károsodást találtak comet assay-vel aflatoxin B1 (0,5 mg/ testtömeg kg) hatására a 24. órában szivárványos pisztráng májában.

3.5. Tyúk fajban végzett génexpresszió eredmények

A **RAD51 gén** esetében a kontroll csoporthoz képest a STER és USTER csoportok tértek el szignifikánsan, illetve a STER csoport szignifikánsan nagyobb génexpressziós értékkel bírt az aflatoxin B1-gyel szennyezett csoporthoz viszonyítva az 1. napon. A 2. nap alkalmával nem detektáltam statisztikai különbséget a csoportok között. A 3. napon a kontroll csoport értékéhez képest a STER csoport szignifikánsan kisebb, míg az USTER és AFLATOXIN csoportok szignifikánsan nagyobb értékkel rendelkeztek, a kezelt csoportok egymástól is különböztek statisztikailag bizonyíthatóan. A 14. napra mindegyik kezelt csoport génexpresszió csökkenést mutatott, ami szignifikáns volt a STER és USTER csoportok esetében. Huang és munkatársai (2020) eredményei a vizsgált DNS javító gének transzkripciójának gátlására utalnak, míg vizsgálatomban az alkalmazott dózisok valószínűsíthetően lehetővé tették a DNS javítását a javító gén expressziójának növekedése által.

A **REV1 gén** esetében az AFLATOXIN csoport szignifikánsan különbözött a másik két kezelt csoporttól, illetve a kontroll csoporttól az 1. napon. A 2. napon expresszió csökkenés volt detektálható a kezelt csoportokban, ami szignifikánsnak bizonyult az USTER és az AFLATOXIN csoportok esetében. Ezzel ellentétben a 3. napon már statisztikailag bizonyíthatóan expresszió növekedés volt tapasztalható az USTER és az AFLATOXIN csoportban a kontroll, illetve a STER csoportokhoz képest. A STER csoport értéke szignifikánsan lecsökkent a kontrollhoz, illetve a másik két kezelt csoporthoz képest. A 7. napon az USTER csoportban a gének expressziós értékei hasonló tendenciát mutattak az előző napi értékhez, ám a STER értéke szignifikáns növekedést, míg az AFLATOXIN csoport génexpressziója szignifikánsan csökkent a kontrollhoz viszonyítva. A kontroll csoport értékéhez képest az összes kezelt csoport génexpresszió csökkenést produkált statisztikailag bizonyítottan. Dumstorf és mtsai (2009) 48 óra után szintén REV1 génexpresszió csökkenést detektáltak egér fibroblaszt sejtekben benz(a)pirin (0,150 µmol/L) kezelés hatására.

A **BRCA gén** expressziója az USTER és az AFLATOXIN csoportokban szignifikánsan emelkedett a kontrollhoz, illetve a STER csoportokhoz képest az 1. napon. A 2. napon nem volt statisztikailag detektálható különbség a csoportok között. A kezelt csoportok génexpressziós értékei szignifikáns csökkenést mutattak a kontrollhoz képest, az USTER csoport esetében a BRCA gén expressziója szignifikánsan különbözött a másik két kezelt csoport értékéhez

viszonyítva. A 7. napon a STER és az USTER csoportok értékei szignifikáns emelkedést, míg az AFLATOXIN csoport expressziós értéke szignifikáns csökkenést mutatott, a kezelt csoportok statisztikailag is eltértek egymástól. A 14. napon az összes kezelt csoport szignifikáns génexpressziós csökkenése volt látható a kontrollhoz képest. Moradi és munkatársai (2015) adataikban eredményeimmel szemben expresszió csökkenést prezentáltak human sejtvonalban (HMEC) 24 órás AFB1 (15, 25, 35 µl) kezelés hatására.

Az **XPA gén** expressziója szignifikánsan csökkent az USTER és az AFLATOXIN csoportokban a kontroll, illetve a STER csoportokhoz viszonyítva. A 2. napon nem volt fellelhető különbség a csoportok között a RAD51 és BRCA gének eredményeihez hasonlatosan. A 3. napon az összes kezelt csoport szignifikánsan eltért egymástól, ám a kontrollhoz képest csak az USTER, illetve az AFLATOXIN csoportok. A 7. napon az AFLATOXIN csoport génkifejeződése statisztikailag bizonyítottan csökkent a másik két kezelt, illetve a kontroll csoportokhoz képest. Az eddig bemutatott gének kifejeződéséhez hasonlóan az XPA expressziója is csökkent minden kezelt csoport esetében a kontrollhoz viszonyítva a 14. napon. Az XPA gén expressziója igen hasonlatosan alakult a GADD45α, illetve MSH6 génekéhez. A 3. napot követő génexpresszió nagymértékű csökkenésének hátterében a DNS károsodás csökkenése állhat, ám az aflatoxin B1 esetében lehetséges a DNS javító mechanizmusok gátlása (Shen & Ong 1996).

A **GADD45 gén** expressziója csak az AFLATOXIN csoportban emelkedett meg szignifikáns módon a másik két kezelt, illetve a kontroll csoporthoz képest. A 2. napon a kontrollhoz viszonyítva csak az AFLATOXIN csoport tért el szignifikánsan, a STER csoport rendelkezett a legnagyobb expressziós értékkel a másik két kezelt csoporthoz képest. A kezelt csoportokban szignifikánsan megnövekedett a GADD45 gén expressziója a kontroll értékéhez képest, mindhárom kezelt csoport értéke eltért egymástól. A 7. napra mérséklődött a génkifejeződés mértéke, a kontrolltól az USTER és az AFLATOXIN csoport értékei tértek el statisztikailag. A többi vizsgált géntől eltérően, a 14. napon csak a STER csoportban mértem szignifikáns expresszió csökkenést. Az 1. napon GADD45α expressziós növekedést csak az alkalmazott aflatoxin B1 szennyezés hatására mértem, hasonlóan Ayed-Boussema és munkatársai (2008) eredményéhez, mely során humán hepatocita sejtvonalban zearalenon (80 µM) hatására expresszió emelkedés következett be a gén esetében 24 órát követően.

Az **MSH gén** kifejeződése esetében a többi vizsgált génhez képest nem volt detektálható eltérés a kontroll csoporthoz képest az 1. napon. A 2. napon csupán az AFLATOXIN csoport értéke tért el szignifikánsan a kontrollhoz viszonyítva. A 3. napon az USTER és az AFLATOXIN csoportokban szignifikánsan megemelkedett az MSH gén expressziója a kontrollhoz képest. A három kezelt csoport statisztikailag is különbözött egymástól. Az AFLATOXIN csoportban csökkenés, a STER és USTER csoportokban növekedés volt detektálható statisztikailag bizonyítottan. A GADD45 gén kivételével a többi

vizsgált génhez hasonlóan mindhárom kezelt csoport expressziós értéke szignifikánsan kisebbnek bizonyult a kontrollhoz képest.

3.6. Tyúk faj szövettani eredményei

Az 1. napon vett májminták esetében a kontroll csoportban az ép parenchimájú hepatociták elkülönültek, a sejthatárok épek. Elvétve lymphocytás-plazmasejtes gyulladásos gócok láthatóak. A STER csoportban súlyos regresszív májelfajulás mutatkozott, lymphocytás-plazmasejtes gyulladásos gócok jelenléte mellett. Az USTER csoport szövettani eredményei megegyeztek a STER csoportéval, ám bővérűség jelei is mutatkoztak (kitágult vererek). Az AFLATOXIN csoportban szintén súlyos diffúz májsejtkárosodás, illetve bővérűség lelhető fel. A 2. napi májminták rendezett májsejtsorokat és ép sejteket mutattak a kontroll csoportban. A STER csoport mintáira közepes mértékű zsíros infiltráció, gyenge, illetve közepes mértékű regresszív májelfajulás volt jellemző.Az USTER csoport szövettani eredményei megegyeztek a STER csoportéval. Közepes mértékű zsíros infiltráció, súlyos regresszív májsejtelváltozás, illetve bővérűség volt megtalálható az AFLATOXIN csoport májmintáiban. A 3. napon a kontroll csoport májmintái nem mutattak elváltozásokat. A STER csoportra enyhe mértékű zsír és vacuolás elfajulás is jellemző volt. Az USTER csoportban közepes fokú diffúz májsejtkárosodás volt megfigyelhető. Közepes és súlyos diffúz májsejtkárosodás jellemezte az AFLATOXIN csoport májmintáit. A 7. napon a A STER csoportban gyenge, illetve közepes regresszív májelfajulás és lymphocytás-plazmasejtes gyulladásos infiltráció jellemezte a májmintákat. Az USTER csoportban az összes májminta közepes fokú regresszív májelfajulást mutatott. Az AFLATOXIN csoport szövettani eredménye a STER csoportéval egyezett meg. A 14. nap a STER és az USTER csoportokban egyhe fokú elváltozás volt látható a májsejteken, kiterjedt lymphocytás infiltrációval. Az AFLATOXIN csoport májmintái közepes, illetve súlyos regresszív májelfajulást mutattak.

4. KÖVETKEZTETÉS ÉS JAVASLATOK

4.1. Comet assay vizsgálat – tyúk fajban végzett kísérlet

A comet assay standard protokolljában a vizsgálandó sejtek 1:1 vagy 1:10 arányú hígítása ajánlott (Devaux et al. 1997). Sokolovic és munkatársai (2007) csirke vérminták esetében az 1:200 arányú hígítást állapították meg a legoptimálisabb sejtsűrűség eléréséhez. Ezek ellenére előkísérleteim során az 1:100 arányú hígítást véltem megfelelőnek csirkemáj minták esetében.

A kísérletben alkalmazott legkisebb dózis (0,215 mg T2+HT-2/ takarmány kg) megközelítette a maximális ajánlott mennyiséget az Európai Unióban (2013/165/EU) és egyben fele az Eriksen & Pettersson (2004) által javasolt tolerálható limitnek baromfi (tyúk faj) számára. E dózis esetében több, mint 4% töredezett DNS volt található az üstökös farki szakaszában pecsenyecsirke májában nagy szórásértékek mellett. THT2 csoportban (0,384 mg T-2+HT-2 toxin/ takarmány kg) a DNS töredezettségben megmutatkozó káros hatás szignifikánsan jelentkezett. Ám a legmagasabb dózisú THT3 csoport (1,559 mg T-2+HT-2 toxin/takarmány kg) nem várt módon DNS töredezettség szempontjából nem különbözött szignifikánsan a kontroll csoporttól a CometScore szoftverrel végzett kiértékelés alkalmával. A vizuális kiértékelés a választott szoftveres kiértékeléssel szemben egyöntetűbb eredményekkel szolgált kisebb szórásértékek mellett, mindhárom kezelt csoport szignifikánsan eltért a kontroll csoport pontszámától.

Tudomásom szerint pecsenyecsirke májon még nem vizsgálták mikotoxinok DNS károsodásra gyakorolt hatását comet assay-vel. Az általam meghatározott 1:100 arányú sejthígítás megfelelőnek bizonyult, mivel segítségével elkerülhettem a nagy sűrűség miatt az üstökösök átfedését, ami a vizuális kiértékelést is gátolná. Az optimális sejtsűrűség beállítása által a módszer csirkemájon is alkalmazhatóvá vált. A kiértékelés módjának megválasztása elengedhetetlen a helyes következtetések megfogalmazásához. A szoftveres, manuális kiértékelés alkalmával a kiértékelőnek jelölnie, elkülönítenie szükséges a comet részeit (fej, illetve farok). A legnagyobb dózisú csoport (THT3) esetében az üstökös részeinek elválasztása, megkülönböztetése nem volt kivitelezhető, mivel a legtöbb sejt esetében csupán az üstökös farki része volt látható. Ennek következtében a CometScore szoftverrel végzett kiértékelés nem lehetett teljes mértékben megfelelő ebben a csoportban. Ennek ismeretében egy másik kiértékelési módot kellett választanom ahhoz, hogy helyesen tudjam megítélni a kapott eredményeket. A vizuális kiértékelést választottam, mivel ennek során nem állnak fenn a fentebb említett limitáló tényezők (Horvatovich et al. 2013). Mindkét módszer által bebizonyosodott, hogy a T-2/HT-2 mikotoxin rendelkezik DNS károsító hatással, ami már 0,215 mg T2+HT-2/ takarmány kg dózis esetén is kimutatható.

4.2. Ponty LORD-Q PCR vizsgálat

Sikeresen adaptáltam a LORD-Q PCR technikát ponty fajra, mely módszerrel objektíven ellenőrizhető az egyes xenobiotikumok DNS károsító hatása.

Az oxidatív stressz fennállásának indikátora számos paraméter, mint például a GST, a GPx, a GR, a kataláz vagy a TBARS szint, melyek megnövekedett szintje utal az oxidatív stressz állapotára, melynek egyik következménye lehet a DNS károsodása. Deng és munkatársai (2019) tilápiában statisztikailag bizonyított mértékű megnövekedett GST mennyiséget mutattak ki a 16. és a 20. napon T-2 mikotoxin (10,8 mg/kg) etetése során. Matejova és munkatársai (2017) a 28. napon kaptak szignifikánsan emelkedett TBARS, kataláz, illetve GST értékeket ponty májban, illetve vesében egyaránt. Ezen eredményekhez képest saját, pontyban végzett kísérleteim során a T-2-vel kezelt csoport lézió értékei a 7. és a 14. napon emelkedtek szignifikánsan, majd a 21. napon kisebb mértékű, nem szignifikáns eltérés volt megfigyelhető a kontroll csoporttól.

A ponttyal végzett kísérletem rámutatott arra, hogy mindkét vizsgált trichotecénvázas mikotoxin DNS léziókat alakít ki hosszabb távú (1-2 hetes) expozíció során, ám e terhelés a 3. héten már nem képes szignifikáns mértékben hatni a DNS-re. Ennek hatterében a DNS károsodás hatására működésbe lépő DNS javító mechanizmusok állhatnak, melyek esetlegesen gátlást szenvednek az első 2 hét során vagy nem képesek a károsodás mértékével lépést tartani, majd a 3. héten már hatékonyabban képesek dolgozni. Ennek bebizonyításához szükséges lenne további DNS javító gének vagy fehérjék vizsgálata.

4.3. Ponty génexpressziós vizsgálat

OGG1 gén esetében az AFB1 képes szignifikánsan megemelni a 8-OH-Gua és 8-hidroxi-citozin mennyiségét (Guidon-Kezis et al. 2014), ami által a BER javító folyamatok bekapcsolnak, aminek része az OGG1 is. Ezen összefüggés állhat eredményeim mögött is, aminek bizonyításához szükséges a jövőben a 8-OH-Gua, illetve a 8-oxoG mennyiségének mérése is a vizsgált szövetmintából. Szignifikáns expresszió növekedés a 24. órában volt látható, így az említett léziók kialakulása ponty faj esetében csak 1 napot követően éri el azt kritikus szintet, mely mellett az OGG1 gén expressziója megemelkedik a kialakult DNS károsodás javítására. Az AFB1 hatáskülönbsége megmutatkozott, szignifikáns emelkedés az Afla, illetve a Ster4 csoportokban volt megfigyelhető a kontroll és a STER1 és a STER2 csoportokhoz képest. A két további szterigmatocisztin dózis szignifikáns csökkenést eredményezett az OGG1 expresszióban, így feltételezhetően nem volt képes kialakítani lényeges mennyiségű léziót, ezáltal DNS károsodást.

HSP70 gén minden időpontban, minden kezelt csoportban expresszió növekedését mértem, ami néhány kivétel mellett szignifikáns mértékű volt. Tendenciálisan az Afla és a Ster4 csoportok expressziója megegyezett, így e gén

esetében az AFB1 tízszeres hatáskülönbsége nem mutatkozott meg egyértelműen a szterigmatocisztinnel szemben. Az AFB1, illetve a szterigmatocisztin már 8 órát követően is kifejti DNS károsító hatását, amire a HSP70 gén expressziójának növekedéséből is következtethetünk. Az összefüggés mértékének pontosításához a jövőben szükséges egyszerre vizsgálni a léziók mennyiségét és a javító gének expresszióját. Vizsgálataimban az idő előrehaladtával az Afla csoportban a 24. órára emelkedett meg szignifikánsan a HSP70 gén expressziója, míg a Ster4 csoportban gén aktiválás csak a 16. órában történt. Ennek folyamán az AFB1 elnyújtottabb, időben is tovább fennálló károsodást tud kialakítani, amire reagálva a gén expressziója időben is elnyújtott emelkedést mutat.

A **p53** kritikus szereppel bír a sejtet érő stresszválasz kialakításában, ezáltal több génnel áll kapcsolatban. Ilyen az OGG1, melynek szabályozza transzkripciós szintjét. Ezt az interakciót eredményeim is alátámasztják. A HSP70 is részese a p53 DNS javításának, amit eredményeim is bizonyítanak, a jövőben szükséges ezen gének együttes vizsgálata. A p53 egyik szabályozója a GADD45α génnek, amit eredményeim, illetve Ayed-Boussema és munkatársai (2008) adatai is alátámasztanak, így ezt a továbbiakban is szükséges vizsgálni. Az AFB1-epoxid képes mutációt létrehozni a p53 génszakaszban, amit zebradánióban már bizonyítottak (Santacroce et al. 2008), ennek nyomon követésére érdemes lehet a p53 negatív szabályozóját, az mdm2 gént vizsgálni. A mismatch javításban a p53, illetve az MSH2 interakcióját bizonyították (Williams & Schumacher 2006), ennek megfelelően fontos lenne kibővíteni vizsgálataimat az MSH2 génre is a jövőben, hogy pontosabban lehessen következtetni az egyes xenobiotikumok DNS károsító hatására. A kísérleteimben az aflatoxin B1 hatáskülönbsége a 24. órában mutatkozott meg tízszeres mértéket meghaladóan, ám a 8. és a 16. órában az aflatoxin B1 és szterigmatocisztin tízszeres hatáskülönbsége mutatkozott meg.

A **GADD45α** szabályozásában részt vesz a p53, mely összefüggést a kapott eredményeim is alátámasztanak. Másik szabályozója a BRCA1, így fontos lenne a jövőben ennek a génnek a vizsgálata is, mely aktiválni és gátolni is képes a GADD45α-t. Szignifikáns expresszió változás a 8. órában csupán az Afla csoportban következett be negatív irányban, ám a 24. órában már a Ster2 csoport kivételével expresszió növekedést detektáltam. Feltételezhetően ezen csoportokban megnövekedett DNS károsodás már elérte azt a szintet, amely által a GADD45α aktiválása már szükséges volt. Li és munkatársai (2013) kapcsolatot találtak a GADD45α, illetve az mdm2 között, így nem csak a p53 oldaláról, de a GADD45α révén is előremutató lenne az mdm2 gén bevonása vizsgálataimba a jövőben.

4.4. Tyúk fajban végzett LORD-Q PCR vizsgálatok

Sikeresen adaptáltam a LORD-Q PCR technikát tyúk fajra, mely módszerrel objektíven ellenőrizhető az egyes xenobiotikumok DNS károsító hatása.

Balogh és munkatársai (2019) azonos mikotoxinok és dózisok mellett brojlerekben a glutation redox rendszer aktiválódását találták, legfőképpen az AFB1 hatására. A vizsgált gének esetében (GSS, GPx4, GSR) AFB1 az 1. napon alulexpresszálódott, majd idővel expresszió növekedés, a 14. napra pedig ismét csökkenés volt megfigyelhető. Ezzel szemben az általam mért léziók mennyisége az 1. napon volt a legmagasabb, ami az oxidatív stressz állapotára utal, majd pedig a 2. napon csökkenés egyfelöl az antioxidáns védelmi rendszer hatékonyságának is köszönhető lehet. A 14. napon az USTER csoport mellett az AFLATOXIN csoport mutatott szignifikáns lézió emelkedést. Hosszabb távú (12 hetes) AFB1 (100 µg/kg) etetés hatására tilápiában megemelkedett a GST és a GPx gének expressziója, ami oxidatív stressz állapotára utal (Bacou et al. 2021). A 14. napon kapott eredményeim szintén az oxidatív DNS károsodás kialakulására utalnak mind az USTER, mind az AFLATOXIN kezelés hatására. A jövőben ennek megerősítésére az antioxidáns védelmi rendszer egyes tagjainak együttes vizsgálata szükséges. Eredményeim alapján az aflatoxin B1 tízszeres hatáskülönbsége valószínűsíthető a szterigmatocisztinnel szemben csirkében. Schroeder és Kelton (1975) ezzel szemben csirke embriókban tizenhatszoros különbséget talált toxicitásban az aflatoxin B1 javára.

4.5. Tyúk fajban végzett génexpressziós vizsgálatok

RAD51 eredményeiből látható, hogy a génexpresszió követi a DNS károsodás mértékét. Kivételt ez alól a STER csoportban az 1-2. nap képez, amikor a génexpresszió csökkent, míg a léziók mennyisége nőtt, illetve az USTER csoportban a 7-14. napok, amely időszakban szintén az expresszió csökkenését mutattam ki a léziók emelkedése mellett. Ennek függvényében a RAD51 gén hatékonyan részt tudott venni a léziók eliminálásában. Annak megerősítésére, hogy tyúk fajban is végbemegy a kétszálú DNS javítás RAD51 által, a jövőben érdemes kiegészíteni a vizsgálatokat kétszálú DNS töredezettség markerekre, például a γ-H2AX fehérjére.

REV1 esetében a STER csoportban a gén expressziója és a léziók mennyiségének változása döntően együtt mozogtak, majd a 14. napon szignifikánsan csökkent a génkifejeződés és a léziók száma is, amiből arra lehet következtetni, hogy a gén elvégezte feladatát. Ezzel szemben az USTER csoportban is együtt mozgott e két paraméter, viszont a 14. napon a génkifejeződés alulműködést, míg a léziók száma szignifikáns emelkedést mutatott, ennek hátterében a gén kimerülése állhat. Az AFLATOXIN csoportban a léziók száma szignifikánsan csökkent a 2. napra, szintje szignifikánan nem különbözött időfüggő módon a további napok során, viszont mindvégig szignifikánsan nagyobb értékkel rendelkezett a kontrollhoz viszonyítva. A REV1 gén ezzel szemben túlexpresszált állapotban volt a 3. és a 7. napok során, a 14. napon szignifikáns mértékű génexpresszió csökkenést mutatott, ami a gén kimerülésére enged következtetni.

A **BRCA2** és a RAD51 expressziója vizsgálataim során nem függött össze az 1-3. napok esetében, ám expressziójuk teljes egyezést mutatott a 7. és a 14. napokon. A 7. napon ez megerősíti a STER és az USTER csoportokban valószínűsíthető a kétszálú DNS törések javítását, a homológ rekombinációt. Az AFLATOXIN csoportban expresszió csökkenés volt tapasztalható, illetve ez a trend volt megfigyelhető mindhárom csoport esetében a 14. napon, amiből a gén kimerülésére vagy gátlására következtethetünk. A léziók mennyiségének összevetése során látható, hogy az AFLATOXIN csoportban a BRCA2 gén expressziója minden időpontban követi a léziók mennyiségi változását. A STER csoportban ez csak a 3-7. és a 7-14. napok között realizálódott, míg az USTER csoportban e két paraméter ellentétes trendet írt le.

Az STER csoportban az **MSH6** gén aktiválódása a 7. napon következett be, majd a 14. napra már szignifikánsan csökkentette a kialakult léziók számát, ezáltal az expresszió is szignifikánsan lecsökkent. Az USTER csoportban már a 3. napon bekövetkezett a gén aktiválása, majd hatékonyan csökkentette a 7. napra a léziók számát, ám a 14. napra a gén kimerülését tapasztaltam, mivel a léziók száma megnövekedett az alulexpresszált állapotnak köszönhetően. Az AFLATOXIN csoportban e kimerülés sokkal gyorsabban bekövetkezett, nagymértékű expresszió emelkedés a 3. napon következett be, ám ez nem volt hatással a léziók mennyiségére.

Az 1. napon szignifikánsan megemelkedett a **GADD45α** expressziója az AFLATOXIN csoportban, ami magyarázható a léziók szignifikáns emelkedésével, majd a 2. napon az expresszió mértéke és a léziók száma is szignifikáns csökkenést mutatott. A 3. napon a gén expressziója nagymértékben emelkedett, ám a léziók számában nem szignifikáns növekedés volt detektálható. A 7. és a 14. napokon a léziók számában nem következett be változás, míg az expresszió a 7. napra a kontroll szintje alá süllyedt, ami a folyamat kimerülésére utal, a 14. napon a kontroll szintjét érte el. Az USTER csoportban a gén időbeli expressziós változásai összhangban voltak a kialakult léziók mennyiségi változásaival, míg ez nem mondható el a STER csoport tendenciáiról. Ayed-Boussema és munkatársai (2008) eredményei is rámutatnak a p53 és a GADD45 gén kapcsoltságára, így a jövőben a p53 gén vizsgálata is szükséges tyúk faj esetében is.

A STER csoportban az **XPA** expressziója és a léziók száma csak a 7-14. napok között követte egymást. Az USTER csoportban az XPA okozta hatékony léziószám csökkenés a 7. napra valósult meg, ám a 14. napon génkimerülés következhetett be, mivel a 14. napra szignifikánsan növekedett a léziók száma. Az AFLATOXIN csoportban a 2. napra csökkent a léziók mennyisége nem szignifikáns expresszió növekedés hatására, ám a 3. napi túlexpresszált állapot nem eredményezett további lézió csökkenést. A 7. és a 14. napokon pedig az XPA gén kimerülése vagy esetleges gátlása nyilvánult meg vizsgálatomban.

4.6 Tyúk szövettani eredmények

A 14. napon pedig a szterigmatocisztin mindkét formája esetében enyhe fokú elváltozás volt látható a májsejteken, kiterjedt lymphocytás infiltrációval. Solcan és munkatársai (2013) csirkemáj patológiás vizsgálata során 54 µg aflatoxin B1/testtömeg kg etetés hatására a 14. napon diffúz vízkóros degeneratív elváltozásokat figyelt meg, vérpangásos érszakaszokat, új epevezeték szakaszok kezdeti formálódását. Yang és munkatársai (2012) a vizsgált májak 83,3%-ban fedeztek fel enyhe szintű léziókat 16,6%-ban pedig súlyosabb léziós részeket 21 napig tartó 75%-ban aflatoxinnal szennyezett takarmányetetés során. Ezen eredményekhez hasonlatosan vizsgálatomban a 7. napon az AFLATOXIN csoportban gyenge, illetve közepes regresszív májelfajulást figyeltem meg a májmintákon. A 14. napon az általam vizsgált májak közepes, illetve súlyos regresszív májelfajulást mutattak. A szövettani eredményeim, illetve az irodalomban található adatok megerősítik, hogy mind a szterigmatocisztin, mint az aflatoxin B1 döntően léziók kialakítását eredményezi több hetes mikotoxin terhelés hatására, mely károsodás egyéb elváltozásokkal (zsíros elfajulás, gyulladásos infiltráció) is együtt járhat. Az általam vizsgált léziók mennyisége is szignifikánsan magasabb volt a 14. napon az USTER és az AFLATOXIN csopotokban, tehát a sejtszintű károsodás nem szűnt meg, amit a szövettani eredmények is mutatnak.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Sikeresen adaptáltam a comet assay-t tyúk faj májsejtjeire és meghatároztam az optimális 1:100 arányú sejtsűrűséget. Kimutattam comet assay-vel a T-2 mikotoxin DNS károsító hatását.
2. Sikeresen adaptáltam, és elsőként alkalmaztam a LORD-Q PCR technikát ponty és tyúk fajokra. Optimalizáltam a hosszú, illetve a rövid DNS szakasz esetében is a PCR reakciókat.
3. Kimutattam, hogy DON és T-2 mikotoxinok hatására léziók alakultak ki a ponty genomjában, ám az idő előrehaladtával csökkenő tendencia volt megfigyelhető a léziók számában mindkét mikotoxin esetében.
4. Sikeresen terveztem, majd optimalizáltam kimutatási eljárást OGG1, HSP70, p53, GADD45α gének vizsgálatához ponty fajban, amelyeket sikeresen alkalmaztam az aflatoxin B1 és szterigmatocisztin hatásvizsgálata során.
5. Sikeresen terveztem, majd optimalizáltam kimutatási eljárást RAD51, GADD45α, REV1, BRCA2, MSH6, XPA gének vizsgálatához tyúk fajban, amelyeket sikeresen alkalmaztam az aflatoxin B1, a szterigmatocisztin és a tisztított szterigmatociszti hatásvizsgálata során.
6. Az aflatoxin B1 mindkét faj esetében néhány kivétel mellett döntően expresszió csökkenést eredményezett a vizsgált génekben, tyúk fajban pedig szignifikáns mértékű léziószám növekedést.
7. Megfigyeltem, hogy ponty fajban a szterigmatocisztin változóan befolyásolja a vizsgált gének expresszióját, ám dózisfüggő összefüggést nem mutattak. Tyúk fajban a természetesen termeltetett és a tisztított szterigmatocisztin is képes volt léziók kialakítására, illetve befolyásolta a vizsgált gének expresszióját.
8. A szövettani vizsgálatok során megállapítottam, hogy az aflatoxin B1 nagyobb mértékű elváltozásokat okozott a szterigmatocisztinhez képest. A természetes és a mesterséges szterigmatocisztin hasonló mértékű elváltozásokat okozott.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK

Tudományos közlemény folyóiratban:

1. Szabó, R. T., Kovács-Weber, M., Balogh, K. M., Mézes, M., & Kovács, B. (2021). Changes of DNA Damage Effect of T-2 or Deoxynivalenol Toxins during Three Weeks Exposure in Common Carp (Cyprinus carpio L.) Revealed by LORD-Q PCR. *TOXINS*, *13*(8). http://doi.org/10.3390/toxins13080576
2. Szabó, R. T., Kovács-Weber, M., Erdélyi, M., Balogh, K., Fazekas, N., Horváth, Á., … Kovács, B. (2019). Comet Assay Study of the Genotoxic Effect of T-2 and HT-2 Toxins in Chicken Hepatocytes. *BIOLOGIA FUTURA*, *70*(4), 330–335.

Konferenciakiadványban megjelent közlemények:

1. Szabó, R. T., Kovács-Weber, M., Vlaskality, S. D., Balogh, K., Erdélyi, M., Mézes, Mi., & Kovács, B. (2019). DNS repair gének expressziójának vizsgálata aflatoxin, és szterigmatocisztin etetés hatására csirkében (Gallus gallus). In *VII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap* (p. 43).
2. Szabó, R. T., Kovács-Weber, M., Kövesi, B., Balogh, K., Mézes, M., & Kovács, B. (2019). Mycotoxins induced DNA damage in common carp (Cyprinus carpio): investigations using LORDQ-PCR and DNA repair gene expression analyses. In *54th Croatian &14th International Symposium on Agriculture: Book of Abstracts* (p. 175).
3. R T, S., M, K.-W., Á, H., M, M., & B, K. (2018). Investigations on the effect of T-2 toxin on chicken liver cells with comet assay. In *17th Alps-Adria Scientific Workshop* (pp. 32–33).
4. Szabó, R. T., Kovács-Weber, M., Kövesi, B., Balogh, K., Mézes, M., & Kovács, B. (2018). DNS javító gének expressziójának változása aflatoxin, illetve szterigmatocisztin hatására pontyban (Cyprinus carpio L.) = Effect of aflatoxin and sterigmatocystin on DNA repair gene expression changes in common carp (Cyprinus carpio L.). In *XXXVII. ÓVÁRI TUDOMÁNYOS NAPOK "FENNTARTHATÓ AGRÁRIUM ÉS KÖRNYEZET AZ ÓVÁRI AKADÉMIA 200 ÉVE – MÚLT, JELEN, JÖVŐ" Összefoglalói* (pp. 94–94).
5. Szabó, R. T., Kovács-Weber, M., Mézes, M., & Kovács, B. (2017). DNS károsodás vizsgálata ponty (Cyprinus carpio) fajban LORDQ-PCR technikával = Evaluation of dna damage in common carp (Cyprinus carpio) by LORDQ-PCR technique. In *6th Scientific Day of Animal Breeding in Gödöllő - International Conference; VI. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap - Nemzetközi Konferencia* (pp. 39–39).
6. Szabó, R. T., Kovács, B., Bencsik, D., Kovács, R., Horváth, Á., Mézes, M., … Weber, M. (2016). A CometScore programmal, illetve vizuálisan

történő kiértékelés összehasonlítása comet-assay esetében. In *XXXVI. Óvári Tudományos Nap - Hagyomány és innováció az agrár- és élelmiszergazdaságban* (p. 61).

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

Tudományos közlemény folyóiratban:

7. Abayné, H. E., Bokor, B., Szabó, R. T., Kovács-Weber, M., Pajor, F., & Póti, P. (2021). Evaluation of selected parameters of carcass quality of intensively fattened Hungarian merino and German mutton merino lambs. *ÁLLATTENYÉSZTÉS ÉS TAKARMÁNYOZÁS*, *70*(2), 147–155.
8. Pap, T. I., Szabó, R. T., Drobnyák, Á., & Kovács-Weber, M. (2021). A baromfitartásban alkalmazott LED megvilágítás hatásának összefoglaló elemzése (Irodalmi áttekintés). *ÁLLATTENYÉSZTÉS ÉS TAKARMÁNYOZÁS*, *70*(2), 123–132.
9. Zimborán, Á., Kovács-Weber, M., Szabó, S., Szabó, R. T., Drobnyák, Á., & Erdélyi, M. (2021). Effect of different oils supplementation on broiler chicken performance. *ANIMAL NUTRITION AND FEED TECHNOLOGY*, *21*, 205–211.
10. Akos, B., Jozsef, S., Rubina, T. S., Peter, P., Istvan, E., & Ferenc, P. (2020). Feeding Experiences of Paulownia Spp. Leaves: Potential Forage Source for Domestic Animals. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ZOOLOGY AND ANIMAL BIOLOGY*, *3*(1), 1–4. http://doi.org/10.23880/izab-16000212
11. Drobnyak, A., Phuong, T. N. L., Heincinger, M., Kustos, K., Almasi, A., Szalay, I. T., … Weber, M. (2019). The Positive Effect of Crossing Speckled Hungarian Breed with Commercial Lines in Term of Meat Production and Meat Quality. *INTERNATIONAL JOURNAL OF POULTRY SCIENCE*, *18*(6), 249–254.
12. Drobnyák, Á., Bódi, L., Heincinger, M., Kustos, K., Szalay, I. T., Almási, A., … Weber, M. (2019). The effect of the crossing of Yellow Hungarian chicken breed with different commercial lines on meat production and meat quality. *BULGARIAN JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE*, *25*(6), 1281–1286.
13. Gerencsér, Z., Matics, Z., Szabó Rubina, T., Kustos, K., Mikó, A., Nagy, I., … Szendrő, Z. (2019). Aggressiveness, Mating Behaviour and Lifespan of Group Housed Rabbit Does. *ANIMALS*, *9*(10). http://doi.org/10.3390/ani9100708
14. Drobnyák, Á., Szabó, R. T., Bódi, L., Kustos, K., Almási, A., Liptói, K., & Weber, M. (2018). Egg parameters of two Hungarian indigenous chicken breeds. In *WORLD'S POULTRY SCIENCE JOURNAL* (p. 466).
15. Németh, T., Podmaniczky, B., Szabó, R. T., Bodnár, Á., Póti, P., Kenéz, C., & Kovács-Weber, M. (2017). Mikroalga takarmánykiegészítés hatása

brojlercsirkéknél. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *13*(2), 107–115.

16. Bognár, B., Mézes, M., Balogh, K., Kovács-Weber, M., Szabó, R. T., Könyves, L., & Jurkovich, V. (2016). Szubklinikai paratuberkulózis fertőzöttség hatása tejelő tehenek egészségére és teljesítményére. *HOLSTEIN MAGAZIN*, *24*(1), 38–40.
17. Jurkovich, V., Bognár, B., Balogh, K., Kovács-Weber, M., Fornyos, K., Szabó, R. T., … Mézes, M. (2016). Effects of subclinical Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis infection on some physiological parameters, health status and production in dairy cows. *ACTA VETERINARIA HUNGARICA*, *64*(3), 301–312.
18. Kustos, K., Abayné, H. E., Balláné, E. M., Fazekas, N., Heincinger, M., Kovács-Weber, M., … Somodi, B. (2016). 4% és 8% kakukkfű kiegészítés vizsgálata a növendék és a hízónyulak termelésére és egészségi állapotára. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *12*(2), 80–90.
19. Szabó, R. T., Bódi, L., & Weber, M. (2016). A baromfitakarmányozás és a húsminőség egyes összefüggései. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *12*(1), 43–50.
20. Szabó, R. T., Mézes, M., Szalai, T., Zajácz, E., & Kovács-Weber, M. (2016). Colour identification of honey and methodical development of its instrumental measuring. *COLUMELLA: JOURNAL OF AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES*, *3*(1), 29–36. http://doi.org/10.18380/SZIE.COLUM.2016.3.1.29
21. Drobnyák, Á., Erdélyi, M., Mézes, M., Szabó, R. T., Szöllősiné, B. R., Horvainé, S. M., & Weber, M. (2015). The effect of oregano supplement on turkey meat quality, lipid peroxidation and antioxidant status. *WORLDS POULTRY SCIENCE JOURNAL*, *71*(Suppl 1), 171.
22. Drobnyák, Á., Kovács, A., Szabó, R. T., & Weber, M. (2014). Bivaly és marhahús fogyasztói szemmel, objektíven. *AGRÁRÁGAZAT*, *5*, 138–141.
23. Szabó, R. T., Bodnár, Á., Pajor, F., Póti, P., & Weber, M. (2014). Mikroalga alapú takarmánykiegészítők alkalmazási lehetőségeinek feltérképezése. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *10*(2), 157–169.
24. Weber, M., Jukovich, V., Hadfi, Z., Szabó, R. T., & Végh, Á. (2014). Állatjólléti igények a tojótyúk és brojler tartásban: termelők kontra fogyasztók az állatokról. *AGRÁRÁGAZAT*, *2*, 142–144.
25. Bálint, C., Kende, Z., Tóth, E., Szabó, V., Szabó, A. K., Tóth, T., … Bálint, C. (2013). *Agrár- és vidékfejlesztési tanulmányok*. Gödöllő: SZIE Vidékfejlesztési Szakkollégium.

26. Drobnyák, Á., Szabó, R. T., Kustos, K., & Weber, M. (2013). A csincsilla tenyésztés Magyarországon. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *9*(3), 117–121.
27. Kerényi, V., Weber, M., Erdélyi, M., Apáti, N. G., Ábrahám, C., Szabó, R. T., & Mézes, M. (2013). Hízósertések termelésének és húsminőségének vizsgálata gyógynövénnyel dúsított takarmányok etetésének hatására. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *9*(3), 183–188.
28. Körözsi, V., Weber, M., Erdélyi, M., Apáti, N. G., Ábrahám, C., Szabó, R. T., & Mézes, M. (2013). Pecsenyeludak termelésének vizsgálata gyógynövénnyel dúsított takarmányok etetésének hatására. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *9*(3), 214–218.
29. Szabó, R. T., Kovács, A., Kokavecz, G., Heincinger, M., Horvainé, S. M., Ábrahám, C., … Weber, M. (2013). Vörösáru /párizsi/ objektív és szubjektív húsminőség vizsgálata. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *9*(3), 337–343.
30. Szabó, R. T., Weber, M., Weidel, W., & Szalai, T. (2013). A méz minősége és színe. In *Agrár- és vidékfejlesztési tanulmányok* (pp. 66–66).
31. Szöllősiné, B. R., Erdélyi, M., Mézes, M., Szabó, R. T., Koczka, N., Horvainé, S. M., … Weber, M. (2013). Illóolaj tartalmú készítmény alkalmazása növendék pulykák termelési paramétereinek fokozására. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *9*(3), 355–361.
32. Takács, A., Weber, M., Szabó, R. T., Kustos, K., Fazekas, N., & Liptói, K. (2013). Korai embrióelhalás összehasonlítása SPF (speficied pathogen free) és normál tyúktojásnál. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *9*(3), 363–369.
33. Weber, M., Sidó, I., Apáti, N. G., Ábrahám, C., Szabó, R. T., Mézes, M., & Erdélyi, M. (2013). Tenyészludak termelési paramétereinek javítása gyógynövény-kiegészítésekkel. *ANIMAL WELFARE ETOLÓGIA ÉS TARTÁSTECHNOLÓGIA / ANIMAL WELFARE ETHOLOGY AND HOUSING SYSTEMS*, *9*(3), 393–400.

Konferenciakiadványban megjelent közlemények:

1. Pap, T. I., Szabó, R. T., Varga, B., Podmaniczky, B., Pacz, M., & Kovács-Weber, M. (2021). LED és hagyományos (Wolfram szálas izzó) megvilágítás hatásai pecsenyecsirkék viselkedésére és termelési

paramétereire (Előzetes etológiai vizsgálati eredményekkel). In *XXVII. Ifjúsági Tudományos Fórum* (pp. 36–41).
2. Pap, T. I., Varga, B., Szabó, R. T., Pacz, M., Podmaniczky, B., & Kovács-Weber, M. (2020). A megvilágítás hatása pecsenyecsirkék viselkedésére és az ezzel összefüggésbe hozható termelési paraméterekre. In *A Magyar Etológiai Társaság XXII. (online) konferenciája* (pp. 44–45).
3. Pap, T. I., Szabó, R. T., Pacz, M., Podmaniczky, B., & Kovács-Weber, M. (2020). Examination of the effect of light sources on meat quality parameters for broilers. In *55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture* (p. 233).
4. Drobnyák, Á., Heincinger, M., Kustos, K., Bódi, L., Szabó, R. T., Skrobár, S. C., … Kovács-Weber, M. (2019). The meat production of Yellow Hungarian Chicken breed in different keeping systems. In *XVII European Symposium on the quality of eggs and egg products and XXIV European symposium on the quality of poultry meat, Book of abstracts* (pp. 171–172).
5. Kovács-Weber, M., Kovács, D., & Szabó, R. T. (2019). Examining the objective quality parameters of pigeon meat. In *XVII European Symposium on the quality of eggs and egg products and XXIV European symposium on the quality of poultry meat, Book of abstracts* (p. 176).
6. Pap, T. I., Szabó, R. T., Pacz, M., Podmaniczky, B., Drobnyák, Á., Zimborán, Á., & Kovács-Weber, M. (2019). Eltérő fényforrások hatása pecsenyecsirkék egyes termelési paramétereire. In *VII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap* (p. 40).
7. Szabó, R. T., Drobnyák, Á., Heincinger, M., Zimborán, Á., Bódi, L., Kustos, K., … Kovács-Weber, M. (2019). The comparison of production and meat quality of turkey crossbreds from Old Hungarian and commercial breeds. In *XVII European Symposium on the quality of eggs and egg products and XXIV European symposium on the quality of poultry meat, Book of abstracts* (p. 170).
8. Szabó, R. T., Lengyel, Á., & Kovács-Weber, M. (2019). Examination of the rearing ability of homing pigeon breeds in different housing technologies. In *18. BOKU-SYMPOSIUM TIERERNAHRUNG* (pp. 211–215).
9. Szabó, S., Szabó, R. T., Fehér, J., Podmaniczky, B., Zimborán, Á., & Kovács-Weber, M. (2019). Immunobiotikum hatásának vizsgálata brojlercsirke hústermelésére. In *VII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap* (p. 44).
10. Szabó, S., Erdélyi, M., Kauser, J., Szabó, R. T., Mézes, M., Fehér, J., … Kovács-Weber, M. (2019). Haszonállatok termelési teljesítményét fokozó lehetőségek feltérképezése. In *XXV. Ifjúsági Tudományos Fórum*.
11. Szabó, S., Kauser, J., Szabó, R. T., Erdélyi, M., Mézes, M., Fehér, J., … Kovács-Weber, M. (2019). INVESTIGATION OF POSSIBILITIES OF

ANTIBIOTIC REPLACEMENT IN BROILERS. In *Animal Breeding 2019* (p. 123).
12. SZABÓ, S., PÁLINKÁS, K., SZABÓ, R. T., ZIMBORÁN, Á., SZABÓ, B., & KOVÁCS-WEBER, M. (2019). Pecsenyecsirke szülőpárállományok teljesítményének vizsgálata üzemi körülmények között. In *Tavaszi Szél 2019 Konferencia. Nemzetközi Multidiszciplináris Konferencia* (pp. 84–84).
13. Zimborán, Á., Erdélyi, M., Szabó, R. T., & Kovács-Weber, M. (2019). A kémhatás és a fehérjék víztartó képességétől függő veszteségek összefüggéseinek vizsgálata kókusz-, pálma- és napraforgóolaj etetésének hatására. In *VII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap* (p. 48).
14. Zimborán, Á., Erdélyi, M., Drobnyák, Á., Szabó, R. T., Szabó, S., Pétervári, S., … Kovács-Weber, M. (2019). Napraforgóolaj adagolás hatásának vizsgálata brojlerek termelésére és húsminőségére. In *XXV. Ifjúsági Tudományos Fórum*.
15. Drobnyák, Á., Skrobár, S. C., Szabó, R. T., Kustos, K., Heincinger, M., Almási, A., … Weber, M. (2018). Termelési és húsminőség vizsgálatok eredményei sárga magyar tyúkra alapozott keresztezésekben = Results of production and meat quality tests in crosses based on yellow hungarian hens. In *Őshonos- és Tájfajták - Ökotermékek - Egészséges táplálkozás - Vidékfejlesztés - Minőségi élelmiszerek - Egészséges környezet: Az agrártudományok és a vidékfejlesztés kihívásai a XXI. században* (pp. 91–92).
16. Drobnyák, Á., Végi, B., Szabó, R. T., Bódi, L., Kustos, K., Kissné, V. É., … Liptói, K. (2018). Kendermagos magyar tyúkra alapozott keresztezések szaporodásbiológiai vizsgálata = Investigation of the reproduction parameters of speckled hungarian chicken crossbreeds. In *Őshonos- és Tájfajták - Ökotermékek - Egészséges táplálkozás - Vidékfejlesztés - Minőségi élelmiszerek - Egészséges környezet: Az agrártudományok és a vidékfejlesztés kihívásai a XXI. században* (pp. 47–48).
17. Szabó, S., Szabó, R. T., Fehér, J., Podmaniczky, B., & Kovács-Weber, M. (2018). Immunbiotikum hatásának vizsgálata brojlercsirke termelésére. In *XXXVII. ÓVÁRI TUDOMÁNYOS NAPOK "FENNTARTHATÓ AGRÁRIUM ÉS KÖRNYEZET AZ ÓVÁRI AKADÉMIA 200 ÉVE – MÚLT, JELEN, JÖVŐ" Összefoglalói* (p. 219).
18. Zimborán, Á., Kovács-Weber, M., Bócsai, A., Ancsin, Z., Szabó, R. T., Balogh, K., … Erdélyi, M. (2018). Kókusz- és pálmaolaj hatása a brojler csirke termelési paramétereire. In *XXXVII. ÓVÁRI TUDOMÁNYOS NAPOK "FENNTARTHATÓ AGRÁRIUM ÉS KÖRNYEZET AZ ÓVÁRI AKADÉMIA 200 ÉVE – MÚLT, JELEN, JÖVŐ" Összefoglalói* (p. 195).
19. Drobnyák, Á., Skrobár, S. C., Szabó, R. T., Kustos, K., Heincinger, M., Zimborán, Á., … Weber, M. (2017b). Vágási paraméterek és húsminőség vizsgálata sárga magyar tyúkra alapozott keresztezésekben. In *6th Scientific Day of Animal Breeding in Gödöllő - International Conference;*

VI. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap - Nemzetközi Konferencia (pp. 28–28).
20. Drobnyák, Á., Skrobár, S. C., Szabó, R. T., Kustos, K., Heincinger, M., Zimborán, Á., … Weber, M. (2017a). Hússzín- és porhanyósság-vizsgálatok kendermagos magyartyúkkal kialakított keresztezésekben. In *6th Scientific Day of Animal Breeding in Gödöllő - International Conference; VI. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap - Nemzetközi Konferencia* (pp. 27–27).
21. Szabó, R. T., Erdélyi, M., Drobnyák, Á., Szöllősiné, B. R., Balogh, K., Mézes, M., & Weber, M. (2017). Effect of different plant oils on some meat quality parameters of turkey. In *16. BOKU- Symposium Tierernahrung* (pp. 179–182).
22. Zimborán, Á., Meszlényi, Z., Bódi, L., Heincinger, M., Szabó, R. T., Drobnyák, Á., … Kovács-Weber, M. (2017). Őshonos magyar pulykafajtákra alapozott keresztezések vizsgálata. In *6th Scientific Day of Animal Breeding in Gödöllő - International Conference; VI. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap - Nemzetközi Konferencia* (pp. 33–33).
23. Zs, M., Zs, S., I, R., T P, F., R, K., L, K., … Zs, G. (2017). ANIHWA - Experimental results at Kaposvár University. In *20. Internationale Tagung über Haltung und Krankheiten der Kaninchen, Pelztiere und Heimtiere* (pp. 27–36).
24. Drobnyák, Á., Kustos, K., Szabó, R. T., Heincinger, M., Bódi, L., Petruska, E., & Weber, M. (2016). Tojáshéjminőség vizsgálata őshonos tyúkfajtákból létrehozott keresztezési konstrukcióknál. In *XXXVI. Óvári Tudományos Nap - Hagyomány és innováció az agrár- és élelmiszergazdaságban* (p. 62).
25. Drobnyák, Á., Szabó, R. T., Bódi, L., Pap, T., Zimborán, Á., Kustos, K., & Weber, M. (2016). Vedletett és nem vedletett őshonos magyar tyúkfajták tojáshéjminőségének összehasonlítása. In *Őshonos- és tájfajták - Ökotermékek - Egészséges Táplálkozás – Vidékfejlesztés* (pp. 45–45).
26. Gerencsér, Z., Kustos, K., Szabó, R. T., Mikó, A., Odermatt, M., Radnai, I., … Szendrő, Z. (2016a). MATING BEHAVIOUR OF RABBITDOES AND BUCKS INGROUPS (PRELIMINARY RESULTS). In *Proceedings of the 11th World Rabbit Congress* (pp. 675–678).
27. Gerencsér, Z., Kustos, K., Szabó, R. T., Mikó, A., Odermatt, M., Radnai, I., … Szendrő, Z. (2016b). Szexuális viselkedés vizsgálata csoportosan tartott anyanyulaknál. In *28. Nyúltenyésztési Tudományos Nap* (pp. 103–107).
28. Szendrő, Z., Matics, Z., Szabó, R. T., Kustos, K., Mikó, A., Odermatt, M., & Gerencsér, Z. (2016a). Agressivity and its effect on lifespan of group housed rabbit does. preliminary results. In *Proceedings of the 11th World Rabbit Congress* (pp. 719–722).
29. Szendrő, Z., Matics, Z., Szabó, R. T., Kustos, K., Mikó, A., Odermatt, M., & Gerencsér, Z. (2016b). Agresszív viselkedés vizsgálata csoportosan

tartott anyanyulaknál. In *28. Nyúltenyésztési Tudományos Nap* (pp. 97–101).
30. Viktor, J., Barbara, B., Krisztian, B., Maria, K.-W., Rubina, T. S., Peter, K., … Miklos, M. (2016). The effects of subclinical M. avium ssp. paratuberculosis infection on the health and production parameters of dairy cows. In *The 29th World Buiatrics Congress, Dublin 2016 - Congress Proceedings* (pp. 529–529).
31. Balogh, S., Heincinger, M., Szabó, R. T., Bódi, L., Drobnyák, Á., Kustos, K., & Weber, M. (2015). Alternatív keresztezések tojásvizsgálata. In *V. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok Nemzetközi Konferencia* (p. 47).
32. Bognár, B., Balogh, K., Mézes, M., Weber, M., Szabó, R. T., Könyves, L., & Jurkovich, V. (2015). Szubklinikai Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis fertőzöttség hatása tejelő tehenek egészségére és teljesítményére - előzetes eredmények. In *A Magyar Buiatrikus Társaság XXV. Nemzetközi Kongersszusa* (pp. 21–25).
33. Drobnyák, Á., Heincinger, M., Kustos, K., Szalay, I., Bódi, L., Szabó, R., … Weber, M. (2015). Comparing meat quality and production of F1 crossbreds between Speckled Hungarian chicken breed and two intensive chicken breeds. In *AGROBIODIVERSITY PROTECTION AND RESEARCH CONFERENCE* (p. 8).
34. Szabó, R. T., Drobnyák, Á., Héver, T., Farkas, G., & Weber, M. (2015). Különleges fogyasztói miőségű pecsenyecsirkék húsminőségének összehasonlítása. In *V. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok Nemzetközi Konferencia* (p. 54).
35. Szabó, R. T., Erdélyi, M., Drobnyák, Á., Körözsi, V., Balogh, K., Mézes, M., & Weber, M. (2015). The effect of thyme and rosemary supplement on roast goose meat quality. *WORLDS POULTRY SCIENCE JOURNAL*, *71*(1), 170–170.
36. Weber, M., Szabó, R. T., Drobnyák, Á., Bukovics, C., & Podmaniczky, B. (2015). A tojáshéjszilárdság tudományos és gyakorlati szemmel. In *V. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok Nemzetközi Konferencia* (p. 56).
37. Weber, M., Szabó, R. T., Ray, K., Drobnyák, Á., Bukovics, C., Podmaniczky, B., & Heincinger, M. (2015). Eggshell quality. *Worlds Poultry Science Journal*,*71*(1), 133.
38. Zimborán, Á., Heincinger, M., Szabó, R. T., Bódi, L., Drobnyák, Á., Kustos, K., & Weber, M. (2015). Őshonos magyar tyúkfajtákra alapozott nemesítés. In *V. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok Nemzetközi Konferencia* (p. 57).
39. Szabó, R. T., Weber, M., Erdélyi, M., Kerényi, V., Balogh, K., & Apáti, N. G. (2013). The effect of thyme and rosemary supplementation on the lipid peroxidation in the liver of fattening pigs. (Kakkukfű és rozmaring adagolás hatásának vizsgálata a lipidperoxidációra hízósertések

májában.). In *VIII. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium - I. Fenntartható fejlődés a Kárpát-medencében nemzetközi konferencia* (pp. 125–126).

40. Szöllősiné, B. R., Erdélyi, M., Mézes, M., Szabó, R. T., Balogh, K., & Weber, M. (2013). Analyzing the effect of plant extracts on lipid peroxide status of turkeys. (Növényi kivonatok hatásának vizsgálata pulykák lipidperoxid státuszára.). In *VIII. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium - I. Fenntartható fejlődés a Kárpát-medencében nemzetközi konferencia* (pp. 128–129).
41. Szőlősiné, B. R., Erdélyi, M., Mézes, M., Szabó, R. T., Koczka, N., Horvainé, S. M., … Weber, M. (2013a). Illóolaj tartalmú készítmény alkalmazása növendék pulykák termelési paramétereinek fokozására. In *Illóolaj tartalmú készítmény alkalmazása növendék pulykák termelési paramétereinek fokozására.* (p. CD-ROM).
42. Szőlősiné, B. R., Erdélyi, M., Mézes, M., Szabó, R. T., Koczka, N., Horvainé, S. M., … Weber, M. (2013b). *Illóolaj tartalmú készítmény alkalmazása növendék pulykák termelési paramétereinek fokozására.* Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar.
43. Szabó, R. T., Weber, M., Weidel, W., & Szalai, T. (2012). Mézzel kapcsolatos fogyasztói ismeretek felmérése és érzékszervi minősítése. In *A magyar mezőgazdaság - lehetőségek, források, új gondolatok: XXXIV. Óvári Tudományos Nap* (pp. 291–297).