MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

GYAKORI KÖRNYEZETI MEGJELENÉSŰ HERBICIDEK ÖKOTOXIKOLÓGIAI ÉS BIODEGRADÁCIÓS SZEMPONTÚ VIZSGÁLATA

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

TÓTH GERGŐ

Gödöllő

2022

A doktori iskola

megnevezése: Környezettudományi Doktori Iskola
tudományága: Környezettudomány

vezetője: Csákiné Dr. Michéli Erika, DSc
egyetemi tanár, intézetigazgató
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Környezettudományi Intézet

Témavezető(k): Dr. Szoboszlay Sándor, PhD
egyetemi docens
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet,
Környezetbiztonsági Tanszék

Dr. Háhn Judit, PhD
tudományos munkatárs
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet,
Környezetbiztonsági Tanszék

……... …… ..……..
Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető(k) jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK 4
2. ANYAG ÉS MÓDSZER 8
3. EREDMÉNYEK 11
4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK 18
5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK 22
6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK 25

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

Haszonnövényeink és állataink védelme, a termésmennyiségek növelésének, a termékek minőségének javításának érdekében az emberiség jelenleg globálisan 3 millió tonna peszticidet használ fel évente. Felhasználásuk a XX. század közepe óta fokozatosan nő. Magyarországon 2020-ban a jelenleg legutolsó szerforgalmi jelentés alapján 28,9 ezer tonna növényvédő szer került forgalomba, melyek 40,6%-a gyomirtó, 28,3%-a gombaölő, 14,4%-a talajfertőtlenítő, 9,5%-a rovarölő szer volt. Az intenzív felhasználás következményeként azonban az élelmiszer-alapanyagokon és késztermékeken kívül az Északi-sarkvidéktől az Antarktiszig gyakorlatilag minden környezeti elemből kimutathatóak szermaradványok formájában, melyeknek a humán- és környezetegészségügyi hosszú távú hatásai gyakran ismeretlenek. Másodlagos hatásaik révén (perzisztencia, a nem célszervezetekre gyakorolt akut- és krónikus toxicitás) kockázatot jelentenek a velük exponálódó élő szervezetekre. Továbbá hozzájárulnak a környezet károsításának és a környezet szennyezésének folyamatához.

Káros biológiai/toxikológiai/ökotoxikológiai hatásaik feltérképezésére már a ’90-es évek óta fejlett módszerek állnak rendelkezésre, amelyek nem csak az akut, de krónikus toxikus hatások kimutatására is alkalmasak lehetnek, abban az esetben is, ha a xenobiotikumok viszonylag alacsony koncentrációban (ng/L-µg/L) vannak jelen a környezeti elemekben. Hosszabb távon a peszticidek, illetve más szennyező anyagok, vegyületek között létrejövő interakciók következtében antagonista, szinergista, vagy additív folyamatok is felléphetnek. Ugyanakkor, e kölcsönhatásokról származó ismereteink még rendkívül hiányosak.

A széles spektrumú herbicid hatás kiváltásának fokozása érdekében a hatóanyagokat különböző biológiai hatásmechanizmussal rendelkező herbicid csoport képviselőivel „potencírozzák”. Tipikus példája ennek a *terbuthylazine* és az S-*metolachlor* együttes alkalmazása mellé bevont, *mesotrione* hatóanyag.

Mellettük a *glyphosate*-ra, mint a világon legnagyobb mennyiségben alkalmazott és forgalmazott herbicid hatóanyagra és az azt tartalmazó készítményekre is óriási figyelem irányul aggályos toxikológiai megítélésük miatt. Feltételezések szerint a probléma oka a készítményekben található formázó-, segéd- és felületaktív anyagok körül keresendő.

A növényvédő szerek jellemzően mezőgazdasági, kertészeti/kiskerti alkalmazásuk során jutnak a környezetünkbe. A szennyvizek szántóföldi szikkasztása, a túlöntözés, a klímaváltozás okozta szélsőséges, extrém nagy csapadékmennyiségek (hirtelen, gyorsan lezúduló) felszíni lemosódás útján elősegítik a mezőgazdasági területeken használt vegyi anyagok mélyebb talajrétegekbe, felszín alatti víztestekbe való egyre nagyobb mértékű bemosódását, jelentős hányaduk a természetes élővizeket is terheli. Ez probléma lehet, hiszen azok a növényvédőszer-hatóanyagok, amelyek a felső, szántott talajrétegben még viszonylag rövid idő alatt lebomlanak, azok a mélyebb rétegek felé húzódva, a felszín alatti vizekben, üledékekben - UV fény és oxigén hiányában – egy ún. másodlagos perzisztencia kialakulása során akár évtizedekig is változatlanul, káros/toxikus kémiai és biológiai aktivitásukat megtartva halmozódnak fel. További probléma lehet, hogy a kedvezőtlen körülmények között zajló lebomlásuk során sok esetben az anyavegyületnél lényegesen toxikusabb bomlástermékek, maradékanyagok keletkezhetnek. Költséghatékonysági szempontokat is figyelembe véve ezen vegyületek eliminálására a biodegradációs vizsgálatokon keresztül a bioremediációs technikák a megfelelőek. A kiindulási anyagokból képződött metabolitok hatásvizsgálati oldalról történő nyomon követésére (biodetoxifikáció) pedig a biológiai alapokon nyugvó ökotoxikológiai tesztek szolgálnak a legjobb megoldással.

Az említett peszticid hatóanyagok és keverékeik, valamint egyes készítmények ökotoxicitásának, bidegradálhatóságának és biodetoxifikálhatóságának

megállapítása céljából a doktori munkám során a következő célokat határoztam meg:

I. Herbicid készítményekben eltérő kombinációkban fellelhető, az Európai Unióban a legnagyobb mennyiségben alkalmazott anyagok közé tartozó:
- *mesotrione*, S-*metolachlor*, *terbuthylazine* hatóanyagok és azok különböző arányú keverékeik,
- a *glyphosate* hatóanyag és legfőbb bomlásterméke, az AMPA, valamint *glyphosate*-alapú készítmények,
- POE(15) formázószer

akut és krónikus expozíció során kiváltott sejttoxikus hatásának megállapítása akut és krónikus citotoxikus hatás mérésére alkalmas *Aliivibrio fischeri* ökotoxikológiai teszttel.

II. A *mesotrione*, S-*metolachlor*, *terbuthylazine* hatóanyagok és különböző arányú keverékeik, valamint a *glyphosate*, az AMPA, a POE(15) formázószer, valamint *glyphosate*-alapú [bizonyítottan hormonrendszert károsító hatású POE(15) segédanyagot tartalmazó és nem tartalmazó] készítmények potenciális direkt hormonhatásának feltárása *Saccharomyces cerevisiae* alapú bioriporterekkel.

III. Kombinált hatóanyag keverékek esetén a Kombinációs Index Módszerrel az alkalmazott tesztszervezetre gyakorolt szinergista, additív és antagonista hatások megállapítása.

IV. A *glyphosate*-ot, *mesotrione*-t, S-*metolachlor*-t és a *terbuthylazine*-t potenciálisan bontó baktériumtörzsek izolálása szennyezett környezeti elemekből, azok identifikálása, illetve a Környezetbiztonsági Tanszéken (KBT) meglévő törzsgyűjtemény folyamatos bővítése.

V. A szennyezett környezeti elemekből izolált és identifikált baktériumtörzsek, valamint a *Rhodococcus* nemzetségbe tartozó, a tudományos szakirodalom alapján növényvédő szer hatóanyag degradáló tulajdonsággal rendelkező típustörzsek *glyphosate*-, *mesotrione*-, S-*metolachlor*- és *terbuthylazine*-lebontó és -detoxifikáló képességének vizsgálata aerob és oxigénlimitált környezetben *in vitro*.

VI. A *glyphosate*, a *mesotrione*, az S-*metolachlor* és a *terbuthylazine* hatóanyagok biodegradációs dinamikájának összehasonlítása oxigénnel jól ellátott és oxigénlimitált körülmények között.

VII. A jó bontási potenciállal rendelkező baktériumtörzsek által a herbicid hatóanyagokból aerált és oxigénlimitált körülmények között keletkező bontási maradékanyagok káros biológiai/ökotoxikológiai hatásainak vizsgálata.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

Alkalmazott anyagok

Ökotoxikológiai és biodegradációs szempontú vizsgálataimban tiszta vegyületek közül a *mesotrione*-t, S-*metolachlor*-t, *terbuthylazine*-t, *glyphosate*-ot, az AMPA-t és a POE(15)-öt vizsgáltam. Vizsgálataimhoz a *mesotrione*, S-*metolachlor* és *terbuthylazine* hatóanyagokból 1:1 és 1:1:1 arányú, valamint herbicid készítmények aktív hatóanyag aránya szerinti nyolc keveréket képeztem. Vizsgáltam továbbá 13 *glyphosate*-alapú herbicid készítményt, amelyek a magyarországi kereskedelemben szabadon hozzáférhetőek és beszerezhetőek bárki számára.

Biológiai hatásmérő tesztek

A rövid és hosszú távú citotoxikus hatásaikat a szabvány szerinti (ISO 11348-2), akut Microtox® *Aliivibrio fischeri* (*AVF*) biolumineszcencia gátlási teszt és a módosított, meghosszabbított kontaktidejű mikrotiter lemezre adaptált krónikus változatának alkalmazásával határoztam meg. Androgén-, ösztrogén-hatásokat a genetikailag módosított *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba tesztorganizmus BLYAS, BLYES törzseivel határoztam meg vizsgálataimban. A BLYAS és BLYES tesztszervezetek esetében a biolumineszcencia intenzitása egyenesen arányos a vegyület hormonális aktivitásának mértékével. Citotoxicitás mérésére párhuzamosan a BLYAS/BLYES törzsekkel a konstitutív BLYR törzset használtam, melynek fénykibocsátása toxikus anyag hatására csökken.

Statisztikai elemzés, értékelés

A biológiai hatásmérő tesztekből nyert adatokat GraphPad Prism 7 szoftver (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) segítségével statisztikailag elemeztem. A koncentráció-válasz görbék meghatározását és az EC_x értékek kiszámítását a szoftverrel végeztem. A koncentráció-válasz görbéket nem-

lineáris regressziós illesztéssel generáltam, az adatok logaritmikus transzformálását és %-os normalizálását követően kaptam meg. A biolumineszcencia gátlási és intenzifikációs értékek kiszámításakor a minták fénykibocsátás értékeinek kontrolltól való százalékos csökkenését, ill. növekedését számoltam.

Kombinációs Index Módszer

A vegyületek között fellépő antagonizmust, addíciót, illetve szinergizmust a Kombinációs Index Módszerrel határoztam meg. A hatóanyag keverékek együttes expozíciója esetén a szinergista, additív, valamint az antagonista hatásokat számszerűsítő Kombinációs Index (KI) értékeket kvantitatív módon a CompuSyn szoftver (The ComboSyn, Inc.) segítségével állapítottam meg. A keverékek hatásai a kapott KI értékek alapján egy részletes KI tartományrendszerbe soroltam és kvalitatív módon osztályoztam az együttes hatások erősségétől függően.

Mintavételi helyszínek és mintavételezés

A 2013 és 2019 közötti időszakban környezeti mintákat (felszíni- és felszín alatt víz, talaj, üledék) vettem a herbicid hatóanyagokat potenciálisan biodegradálni és biodetoxifikálni képes baktérium törzsek izolálása céljából i.) egy közép-magyarországi szénhidrogénnekkel szennyezett kárhelyről, ii.) Cegléden található mezőgazdasági területről, valamint iii.) a Balaton részvízgyűjtő területén található befolyó és elfolyó vízfolyásokról.

Mikrobák izolálása és identifikálása

A begyűjtött környezeti mintákból dúsító közegeket hoztam létre (herbicidekkel mesterségesen kontaminált), melyekből általános mikrobiológiai tenyésztéses eljárásokkal a herbicid hatóanyagokat potenciálisan bontó mikrobákat izoláltam. Az izolátumokat 16S rDNS génszekvencia analízis alapján identifikáltam molekuláris biológiai módszerekkel.

Biodegradációs (aerob és mikroaerob) és biodetoxifikációs kísérletek

Az alkalmazott biodegradációs kísérletekben az izolált és identifikált, valamint szakirodalmi kutatásom szerint xenobiotikumok biológiai lebontására képes mikrobák leválogatását végeztem el, figyelembe véve a humán- és környezetegészségügyi szempontú veszélyességi besorolásukat. A törzsekből egységes denzitású (OD_{600}=0,6) 72 órás inokulumokat hoztam létre, folyékony szubmerz tenyészetekben vizsgálva az 5 mg/L koncentrációjú herbicid hatóanyagok lebontását. A bontási kísérlet végén (7 nap rázatásos inkubáció, 28 °C), a baktériumszuszpenziókat felülúszó és pelletre frakcióra választottam szét centrifugálással az ezt követő kémiai-analitikai- (GC-MS/MS és/vagy LC-MS/MS, Wessling Hungary Kft.) és a biodetoxifikációs (krónikus *AVF*) vizsgálatok miatt. A törzsek bontási, illetve bioadszorpciós képességét a kontroll mintákhoz viszonyítva százalékosan fejeztem ki. A mikroaerob/oxigénlimitált körülmények között zajló bontási kísérleteimben azokat a baktériumtörzseket alkalmaztam, amelyek az aerob/oxigénnel ellátott körülmények között zajló vizsgálataimban legalább 40%-os degradációs potenciállal rendelkeztek három párhuzamos ismétlésből kapott eredmények alapján. A bontási maradékanyagok citotoxicitásának (bidetoxifikáció) mérését a krónikus *AVF* teszttel végeztem el.

3. EREDMÉNYEK

Akut és krónikus Aliivibrio fischeri citotoxicitási tesztek (mesotrione, S-metolachlor, terbuthylazine)

A *mesotrione*, S-*metolachlor*, *terbuthylazine* hatóanyagok akut toxicitása növekvő sorrendben a következő: *terbuthylazine* (nem-toxikus), S-*metolachlor* (265 mg/L), *mesotrione* (118 mg/L). Az azonos arányban (1:1) elegyített keverékek magasabb toxicitást eredményeztek, mint a készítmények összetétele szerint kevertek. Az 1:1 arányú keverékek közül a nem-toxikus *terbuthylazine mesotrione*-nal kombinálva váltotta ki a legnagyobb toxikus hatást (EC_{50}= 30 mg/L). Továbbá, ez több, mint tízszer toxikusabbnak bizonyult, mint az S-*metolachlor*-ral kombinálva (EC_{50}= 376 mg/L) (**1. táblázat**).

A krónikus *AVF* tesztben a tesztorganizmus a 10 és 15 órás expozíciós időnél bizonyult a legérzékenyebbnek és legmegbízhatóbbnak. Az S-*metolachlor* krónikus toxicitása egy nagyságrenddel nagyobb volt ($EC_{50,\ 10óra}$= 59,2 mg/L, $EC_{50,\ 15óra}$= 54,0 mg/L), mint az akut tesztnél mért ($EC_{50,\ 30perc}$= 265 mg/L), míg a *mesotrione* toxicitásában nincs szignifikáns különbség ($EC_{50,\ 10óra}$= 75,9 mg/L, $EC_{50,\ 15óra}$= 189,2 mg/L) összehasonlítva az akut teszt eredményeivel ($EC_{50,\ 30perc}$= 118 mg/L). Az S-*metolachlor*-hoz hasonlóan az *AVF* látványosan megnövekedett érzékenységet mutatott a *terbuthylazine* esetében is ($EC_{50,\ 10óra}$= 4,9 mg/L és $EC_{50,\ 15óra}$= 9,6 mg/L). A krónikus *AVF* tesztben a *terbuthylazine* mutatta a legerősebb toxikus hatást a tesztorganizmusra nézve. A készítmények alapján elkészített keverékek közül három (Gardoprim Plus Gold®, Calaris Pro® és Lumax®) a krónikus tesztben egy nagyságrenddel potensebbnek bizonyult, mint a rövidtávú, Microtox® tesztben. Az akut teszttel ellentétben krónikus expozíció során a készítményekben feltüntetett hatóanyag arányok szerinti és az azonos koncentrációban elegyített keverékek között nem állapítható meg szignifikáns, nagyságrendi toxicitásbeli különbség (**1. táblázat**).

1. táblázat: Az akut (30 percnél) és a krónikus (10 és 15 óránál) *AVF* tesztek EC_{50} értékei (mg/L) szakirodalmi adatokkal összehasonlítva.

Aktív hatóanyagok és a belőlük képzett keverékek	EC_{50} értékek (mg/L) a krónikus *AVF* tesztekből (95%-os konfidencia intervallum) és R^2 értékek		EC_{50} értékek (mg/L) az akut *AVF* citotoxicitási tesztekből (95%-os konfidencia intervallum)	
	10 óra	**15 óra**	**Saját mérés**	**Szakirodalmi adat**
mesotrione	75,9 (64,21 - 89,64) R^2: 0,917	189,2 (161,7 – 221,3) R^2: 0,906	118 (76 – 180)	43,6 ± 2,4 (15 perc); 398,66
***S-metolachlor* (*metolachlor)**	59,2 (52,36 – 69,02) R^2: 0.924	54,0 (49,08 – 61,50) R^2: 0,935	265 (190 – 370)	17 (**metolachlor*); 214,85; 178,4 ± 22,8 (15 perc); 215,3
terbuthylazine	4,9 (4,03 – 6,10) R^2: 0,920	9,6 (6,57 – 14,07) R^2: 0,679	n.t. (-)	41,07 (15 perc); n.a.
***S-metolachlor* + *terbuthylazine* (arány 1:1)**	117,2 (83,78 – 163,9) R^2: 0,843	111,7 (87,34 – 142,8) R^2: 0,835	376* (168 – 838)	n.a.
***S-metolachlor* + *terbuthylazine* (arány[1] 1,7:1)**	48,1 (34,25 – 67,68) R^2: 0,851	52,4 (33,46 – 82,20) R^2: 0,740	450* (84 – 2380)	n.a.
***mesotrione* + *S-metolachlor* (arány 1:1)**	100,7 (63,85 – 158,8) R^2: 0,870	87,2 (57,53 – 132,3) R^2: 0,868	50 (38 – 66)	14,4 ± 0,8 (15 perc)
***mesotrione* + *S-metolachlor* (arány[2] 1:8,5)**	112,3 (68,85 – 183,2) R^2: 0,880	102,9 (46,44 – 227,9) R^2: 0,717	182 (86 – 386)	n.a.
***mesotrione* + *terbuthylazine* (arány 1:1)**	34,2 (22,40 – 52,33) R^2: 0,686	38,5 (28,01 – 53,01) R^2: 0,780	30 (24 – 34)	n.a.
***mesotrione* + *terbuthylazine* (arány[3] 1:6,5)**	16,4 (12,55 - 21,38) R^2: 0,738	19,5 (13,44 – 28,16) R^2: 0,612	212 (86 – 512)	n.a.
***mesotrione* + *S-metolachlor* + *terbuthylazine* (arány 1:1:1)**	55,5 (34,60 – 89,23) R^2: 0,819	59,5 (41,12 – 84,12) R^2: 0,790	56 (46 – 68)	n.a.
***mesotrione* + *S-metolachlor* + *terbuthylazine* (arány[4] 1:10:3)**	79,8 (54,78 – 116,4) R^2: 0,920	81,0 (51,82 – 126,8) R^2: 0,837	136 (44 – 410)	n.a.

Jelmagyarázat: [1]: Gardoprim Plus Gold® készítmény hatóanyag tartalma alapján (Syngenta AG - 312 g/L *S-metolachlor*, 187 g/L *terbuthylazine*); [2]: Camix® készítmény hatóanyag tartalma alapján (Syngenta AG – 60 g/L *mesotrione*, 500 g/L *S-metolachlor*); [3]: Calaris Pro® készítmény hatóanyag tartalma alapján (Syngenta AG – 50 g/L *mesotrione*, 326 g/L *terbuthylazine*); [4]: Lumax® készítmény hatóanyag tartalma alapján (Syngenta AG – 37,5 g/L *mesotrione*, 375 g/L *S-metolachlor*, 125 g/L *terbuthylazine*); n.t.: nem toxikus - toxikus hatást (biolumineszcencia gátlás) nem detektáltunk a tesztelt koncentrációknál; n.a.: nincs adat; n = 5 az akut tesztnél, n = 3 a krónikus tesztnél; *: EC_{50} érték extrapolált adatokból lett kalkulálva.

A Kombinációs Index Módszerrel megállapított hatóanyag-keverékek együttes hatásai

Akut *AVF*: 30 perces expozíció után az összes keverék szinergista hatást mutatott 0,12 - 0,77 közötti KI értékekkel (EC_{50}), erős vagy mérsékelt szinergizmust jelezve. A *terbuthylazine*-t tartalmazó keverékek erős szinergizmusa feltételezhetően nem csak az önmagában nem-toxikus vegyület hatásainak köszönhető. A *mesotrione* és a *terbuthylazine* (1:1 arányú) kombinált, akut toxicitása (EC_{50}= 30 mg/L) által eredményezett szinergista hatása a legnagyobb az összes vizsgált vegyület keverék közül. Az EC_{90}-nél meghatározott KI értékek közül az S-*metolachlor* + *terbuthylazine* keveréknek két kombinációja (1:1 és 1:1,7) és a *mesotrione* + *terbuthylazine* (1:6,5 arányú) kombinációja mutatott erős, illetve mérsékelt antagonista hatást. A *mesotrione*-t ugyanolyan arányban S-*metolachlor*-ral keverve erős szinergizmust [figyelemre méltó KI értékkel (0,12) még alacsony koncentrációknál is (EC_{10} és EC_{20})], míg az 1:8,5 arányúnál antagonista és additív választ állapítottam meg.

Krónikus *AVF*: a *mesotrione* + S-*metolachlor* (1:1) keverékét additív/szinergista hatások jellemezték. Az összes többi keverék, kombináció esetében a Kombinációs Index Módszer antagonista válaszokat tárt fel mindkét vizsgált kontaktidőnél (10 és 15 óra), mérsékelttől (KI > 1,20) a nagyon erős (> 10) antagonizmusig.

Akut és krónikus Aliivibrio fischeri citotoxicitási tesztek [glyphosate, AMPA, POE(15), glyphosate-tartalmú készítmények (13)]

A tiszta vegyületek közül a *glyphosate* és az AMPA, 30 perc expozíció után még a legnagyobb alkalmazott koncentrációban sem okozták a tesztszervezet fénykibocsátás gátlását. Másfelől, az AMPA és a POE(15) esetében a legalacsonyabb koncentrációknál a biolumineszcencia enyhe növekedése volt megfigyelhető. A *glyphosate*-alapú herbicidek közül legnagyobb toxikus hatást a Glialka Express 6H® fejtette ki, ahol az EC_{50} értékek 3,8 és 3 mg/L voltak a *glyphosate* IPA-sóra és *glyphosate*-savra megállapítva. A Glialka Express 6H®-t

a Roundup® Classic, Total®, Roundup® Mega, Medallon Premium® és Glialka Star® követte. A Roundup® Mega és a Glialka Star® toxicitása szinte megegyezett az összetételük miatt. A többi készítmény kevésbé volt toxikus az *Aliivibrio fischeri*-re nézve az akut tesztben: az EC_{50} értékek egy nagyságrenddel nagyobbak voltak, 144 mg/L-től (108 mg/L *glyphosate*-savra vonatkoztatva) 606 (445 mg/L *glyphosate*-savra vonatkoztatva) mg/L-ig.

A krónikus vizsgálatot illetően a POE(15) toxicitása hasonló volt az akut vizsgálat eredményeihez. A *glyphosate* és az AMPA, mint tiszta vegyületek szintén nem okoztak gátlást, ugyanúgy, mint az akut tesztben. A Glialka Express 6H® itt is a legtoxikusabb készítménynek bizonyult, EC_{50} értékei 3,9 és 1,2 mg/L volt, 10 és 15 órás expozíciónál. Ezt követte a Barclay Gallup Biograde 360® és a Medallon Premium®, ahol az EC_{50} értékek szintén nagyon alacsonyak voltak: 4,5 és 39,3 mg/L 10 óra után, illetve 26,4 és 30,3 mg/L 15 óra után. Az *AVF* a legnagyobb érzékenységet 15 órás expozíciónál mutatta a krónikus tesztben és érzékenyebb volt a herbicidekre, mint az akut tesztben.

Összességében nem találtam összefüggést a citotoxicitás és készítményekben található *glyphosate*-só típusa között. Következésképpen a magas toxicitást valószínűsíthetően a segédanyagok okozzák, nem pedig a *glyphosate*-só.

Hormonális aktivitás és sejttoxikus hatások vizsgálata Saccharomyces cerevisiae alapú bioriporterekkel (BLYAS, BLYES, BLYR)

A *mesotrione*, S-*metolachlor*, *terbuthylazine* hatóanyagok közül egyik vegyület sem idézett elő fénykibocsátást a BLYAS és BLYES bioriporterekben. Így megállapítható, hogy nincs direkt hormonhatása egyik hatóanyagnak sem, azaz közvetlenül nem kötődnek a humán ösztrogén-, vagy androgén receptorokhoz.

Sem a *glyphosate*, sem az AMPA nem bizonyult toxikusnak a BLYR törzsre és egyik sem rendelkezett hormonális aktivitással BLYAS, BLYES törzsek esetében. Ezzel szemben a POE(15) citotoxikus (EC_{50}= 24 mg/L) és ösztrogén hatásúnak (EC_{50}= 13,4 mg/L) bizonyult a BLYR és a BLYES tesztekben. A

Glialka Express 6H® az *AVF* vizsgálatokhoz hasonlóan, erős toxikus hatást gyakorolt *S. cerevisiae* BLYR törzsére, nagyon alacsony EC_{50} érték (4,5 mg/L) mellett. Ebben az esetben, az erőteljesen fellépő citotoxikus hatások miatt, a hormonális aktivitás nem volt mérhető a BLYES és a BLYAS segítségével. A POE(15)-tel formázott Gladiátor 480 SL® és a Roundup® Classic mellett a más segédanyag összetételű Total® és Glialka Star® mérsékelt toxicitással bírt, továbbá mind a négy készítmény biolumineszcencia intenzifikációt eredményezett a BLYES törzsnél. A Glyfos Dakar® volt az egyetlen olyan készítmény, amelynek sem citotoxikus, sem ösztrogén hatása nem volt, de androgén aktivitást mutatott (EC_{50}= 22,4 mg/L). A Fozát 480®, a Dominátor Extra 608 SL® és a Roundup® Mega enyhén sejttoxikusnak bizonyultak, és nemcsak ösztrogén, hanem androgén aktivitással is rendelkeztek. A bioriporter tesztek eredményei szerint az ösztrogén és/vagy androgén hatások nem tulajdoníthatóak egyértelműen a *glyphosate*-só típusának.

A glyphosate-alapú készítmények citotoxicitása és hormonális aktivitása a hígítás százalékában kifejezve a mezőgazdasági és kiskerti felhasználásra ajánlott értékekhez képest

Az *Aliivibrio fischeri* és *Saccharomyces cerevisiae* BLYR citotoxicitási, valamint a BLYES és BLYAS által mért hormonális aktivitási effektív koncentráció értékekből (mg/L) százalékos arányra átszámított hígítási fokokat (%), melyeket a **2. táblázatban** feltüntetett *glyphosate*-alapú készítmények *glyphosate*-só tartalmából számoltam ki. A mezőgazdasági, kiskerti/háztartási felhasználásukhoz ajánlott hígításban, 0,2 – 3,5% közötti dózisban javasolt kijuttatni azokat. Az összes készítmény citotoxikus hatást gyakorolt az *Aliivibrio fischeri*-re egy, vagy két nagyságrenddel kisebb hígításban, mint a mezőgazdasági és/vagy kiskerti/háztartási felhasználásra ajánlott minimum dózis. Hasonló jelenség volt megfigyelhető a közvetlen hormonális aktivitás mérésekor is: míg a Medallon Premium® ösztrogén aktivitását viszonylag magas (16%) hígítás mellett, addig a többi készítmény hormonális aktivitását 0,011 -

0,41% hígítás között azonosítottam. A Roundup® Mega androgén aktivitásának EC_{50} értéke három nagyságrenddel alacsonyabb hígításnál fordult elő (az eredeti készítmény 7,15E-04%-a), mint a mezőgazdasági kijuttatási dózis (0,2 - 3,5%) minimuma.

2. táblázat A citotoxicitási és a hormonális aktivitási tesztekből származó EC_{50} értékek átszámítva a *glyphosate*-alapú készítmények hígítási százalékára.

Készítmények	EC_{50} értékek tekintetében kalkulált hígítási fokok (%) a készítmények esetében					
	Akut *AVF* 30 perc	Krónikus *AVF*		BLYES törzs 5 óra	BLYAS törzs 5 óra	BLYR törzs 5 óra
		10 óra	15 óra			
Barclay Gallup Biograde 360® [1]	0,125	0,0009	0,0055	n.h.	n.h.	n.h.
Boom Efekt® [1]	0,125	0,103	0,061	n.h.	n.h.	1,59
Fozát 480® [1]	0,03	0,065	0,017	0,035	0,011	0,23
Gladiátor 480 SL® [1, 6]	0,03	0,078	0,021	0,018	n.h.	0,10
Glialka Express 6H® [1]	0,04	0,041	0,012	n.m.	n.m.	0,046
Kapazin® [1]	0,06	0,061	0,026	n.h.	n.h.	n.h.
Roundup® Classic [1, 6]	0,01	0,080	0,024	0,011	n.h.	0,021
Total® [1]	0,015	0,009	0,040	0,015	n.h.	0,021
Glialka Star® [3]	0,02	0,141	0,042	0,029	n.h.	0,029
Roundup® Mega [3]	0,015	0,079	0,025	0,023	7,15E-04	0,025
Dominátor Extra 608 SL® [2]	0,026	0,056	0,029	0,041	0,012	0,29
Glyfos Dakar® [4]	0,04	0,011	0,083	n.h.	0,003	8,42
Medallon Premium® [5]	0,02	0,008	0,006	16,13	n.h.	n.h.

Jelmagyarázat: [1] – IPA-só; [2] – DMA-só; [3] – P-só; [4] – AM-só; [5] – DIAM-só; [6] – POE(15) tartalmú készítmény; n.h. – nincs hatás; n.m. – nem mérhető a citotoxikus hatások miatt.

Biodegradációs és biodetoxifikációs kísérletek

A biodegradációs kísérleteimbe összesen 20 különböző nemzetséghez sorolható 36 mikrobafaj 45 törzsét vontam be szakirodalmi kutatómunkám alapján. Ezen felül, a *Rhodococcus* nemzetséghez tartozó, nemzetközi gyűjteményekből származó 44 típustörzset is vizsgáltam.

Az aerob körülmények között végzett biodegradációs kísérleteimben a vizsgált 99 baktérium törzs egyike sem tudta biodegradálni a *glyphosate*-ot, *mesotrione*-t és a *terbuthylazine*-t. A K176 jelű *Streptomyces caniferus* törzs kiváló hatékonysággal bontotta (94,6% ± 1,1%) az S-*metolachlor*-t. A K176 esetében a lebontást igazolja, hogy a pelleten kötött S-*metolachlor* kiindulási koncentrációjának még az 1%-át se érte el. A *Streptomyces caniferus* képes volt a vegyület biodetoxifikációjára úgy, hogy a krónikus *AVF* tesztben 10. és 15. órára fénykibocsátás emelkedést, azaz a citotoxicitás megszűnését detektáltam. A *terbuthylazine* kiindulási koncentrációjának (5 mg/L) ~40-65%-át három *Rhodococcus* típustörzs (*R. kyotonensis* JCM 23211, *R. phenolicus* JCM 14914, *R. agglutinans* KCTC 39118) bioadszorbeálta a biomasszáján. A bioadszorpciós folyamatok miatt a felülúszóban megmaradt *terbuthylazine* maradékanyag mennyiség (~2-3 mg/L) a krónikus *AVF* biológiai hatásmérő tesztben nem volt sejttoxikus, fénykibocsátás serkentést generált.

Mikroaerob körülmények között egyik baktériumtörzs sem tudta biodegradálni a négy hatóanyag egyikét sem. Az eredménytelenül záródó mikroaerob biodegradációs kísérletek következtében a mikrobák biodetoxifikációs képességét nem vizsgáltam.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Dolgozatomban herbicid hatóanyagok, keverékek és készítmények ökotoxicitásának megismerésére, továbbá a hatóanyagok biológiai úton történő lebonthatóságára és detoxifikációjára fókuszáltam. A herbicidek közül a környezetben gyakori megjelenéssel rendelkező *glyphosate*-ot, *mesotrione*-t, S-*metolachlor*-t és *terbuthylazine*-t választottam ki.

A herbicidek sejttoxicitásának vizsgálatára akut *AVF* standard tesztet alkalmaztam. Megállapítottam, hogy a *terbuthylazine* nem, de az *S-metolachlor* és a *mesotrione* akut toxicitást eredményezett. Néhány kísérletes tanulmány már korábban vizsgálta ezen herbicidek mikrobiális ökotoxicitását akut Microtox® tesztben vagy ezek keverékét (*mesotrione* + S-*metolachlor*), összehasonlítva azokat az általam kapott eredményekkel az *S-metolachlor* esetében jó egyezés volt megfigyelhető. Viszont a *terbuthylazine* esetében az irodalmi adatokkal szemben ellentmondásos eredményt kaptam (*terbuthlyazine*: $EC_{50,\ irodalom}$= 41,07 mg/L (15 perc), $EC_{50,\ saját\ mérés}$= nem toxikus). A tapasztalt nagy különbségeknek számos oka lehet, hogy a szerzők 15 percig exponálták a tesztszervezetet 30 perc helyett. A *mesotrione* és az S-*metolachlor* biolumineszcencia gátlást okozott mind az akut, mind a krónikus tesztben, bár a toxikus hatás az utóbbinál volt kifejezettebb, hasonlóan a *terbuthylazine*-hoz. A *mesotrione*, S-*metolachlor* és a *terbuthylazine* kombinációinak rövid-, és hosszú távú toxicitását [a *mesotrione* + S-*metolachlor* (1:1) kivételével Microtox® teszt] először igazoltam. A nyolc keverék közül egy, a növényvédő szer forgalomban jelenleg is elérhető, engedéllyel rendelkező készítmény (Calaris Pro®) hatóanyag tartalmával azonos mix volt a legtoxikusabb (*mesotrione* + *terbuthylazine* 1:6,5 arányú kombináció). A hatóanyagok krónikus citotoxicitásának vizsgálatáról elmondható, hogy az *AVF*-re alkalmazott mikrotiter lemezes módszer, az akut teszttel szemben időtakarékosabb és időegység alatt nagyobb számú mintát lehet vele egyszerre vizsgálni. Az eredmények alapján a krónikus meghosszabbított

idejű módszer érzékenysége jobbnak bizonyult (akár egy nagysádrenddel), mint a 30 perces szabvány szerinti akut teszté. Az *AVF* prokarióta tesztszervezetet alkalmazó krónikus bioteszt érzékeny és könnyen kivitelezhető vizsgálat, amely alkalmas a peszticidek hosszú távú, krónikus toxicitásának meghatározására. A krónikus teszt megnövekedett érzékenysége fontos eredmény a növényvédő szerek és keverékeik ökológiai kockázatának pontosabb megállapításában. A fentebb bemutatott előnyös tulajdonságai indokolják a krónikus *AVF* teszt rutinszerű felhasználását a gyakorlatban, könnyen meghonosítható lehetne az ökotoxikológiai vizsgálatok egyik elemeként. A jövőben hasznos lehet, mint előzetes és önálló, figyelmeztető, valamint értékelő vizsgálati módszer.

A peszticidek együttes hatásainak legnagyobb adatbázisát BELDEN és mtsai. (2007) 207 peszticid-keverékéről alkotta meg: a *mesotrione*, az S-*metolachlor* és a *terbuthylazine* megtalálható az adatbázisban, ellenben ezek keverékeikről nincs adat. A gyomirtószer-keverékek együttes, az *AVF* tesztszervezetre antagonista, additív vagy szinergista hatással rendelkeztek, melyet elsőként publikáltam.

A *glyphosate*-alapú herbicidek káros biológiai hatásait számos tanulmányban közölték, ennek ellenére a témához továbbra is tisztázásra váró ellentmondások tapadnak. Vizsgálataim során a vizsgált 11 szabadforgalmú, POE(15)-mentes készítményre összpontosítottam, amelyek legtöbbje akut és krónikus citotoxicitást (*AVF* tesztek), valamint közvetlen ösztrogén és androgén hatást mutatott (BLYES és BLYAS tesztek), míg a *glyphosate*-sav aktív hatóanyag hatástalannak bizonyult az alkalmazott biotesztekben. Elsőként közöltem *in vitro* eredményeket a POE(15) nélküli *glyphosate*-alapú készítmények akut és krónikus citotoxicitásáról *Aliivibrio fischeri* ökotoxikológiai tesztorganizmusra nézve, valamint közvetlen ösztrogén és androgén hatásaikról a *Saccharomyces cerevisiae* élesztő alapú tesztrendszerekkel vizsgálva. Kapcsolatot nem sikerült megállapítanom a biológiai hatások és a *glyphosate*-só típusa vagy koncentrációja között. Ebből arra lehet következtetni, hogy a citotoxicitás és a

hormonális aktivitás a készítményekben megtalálható segédanyagokkal kapcsolható össze. Megállapításaim szerint mind a tizenhárom vizsgált készítmény citotoxikus és közülük tíznek közvetlen hormonális aktivitása is van az ajánlott mezőgazdasági és kiskerti alkalmazási koncentrációknál legalább egy nagyságrenddel alacsonyabb hígításban is, vagy a 0,5%-os koncentrációban, amelyet alkalmazásuk után felszíni vizekben is kimutattak. A legmarkánsabb hormonálisan aktív hatásokat 0,5%-os koncentrációszint alatt, több esetben egy nagyságrenddel alacsonyabb mértékben váltották ki. Eredményeim alapján a krónikus *AVF* kísérletekből származó EC_{50} értékeket összehasonlítottam a biztonságtechnikai adatlapjukon található más, vízi élőlényekére meghatározottal. A *Daphnia magna* esetében figyelemre méltó különbségeket lehetett megállapítani: az *AVF* által mért EC_{50}-értékek egy- és két nagyságrenddel alacsonyabbak voltak, mint a *Daphnia magna* 48 órás vizsgálatban nyolc készítmény esetében. Az eredményeim rámutatnak arra, hogy az aktív hatóanyagon túl az azt tartalmazó összetett készítmények felülvizsgálata sem maradhat el. A növényvédőszer-hatóanyagok és készítmények ökotoxikológiai vizsgálata mellett a formázóanyagok toxicitásának meghatározása is nélkülözhetetlen. Elengedhetetlen a *glyphosate* alapú készítményekben alkalmazott segédanyagok egészségre és környezetre gyakorolt káros és kumulatív hatásainak megértése az átfogóbb kockázatértékelés érdekében, értékelési protokolljaik frissítése (lehetséges karcinogenitás, endokrin diszruptor hatások), illetve a szabad hozzáférhetőségük felülvizsgálata is sürgetően fontos feladat.

Az aerob biodegradációban vizsgált 99 baktériumtörzs közül csak egy volt képes az S-*metolachlor* szinte teljes lebontására, ami arra enged következtetni, hogy még a kedvező és kontrollált laboratóriumi körülmények között is nehéz a vegyületek biológiai átalakítása. A kémiai-analitikai úton alátámasztott biodegradációt a mikroorganizmusok által képzett bontási maradékanyagok

citotoxicitásának mérése követte: az *S-metolachlor*-t eredményesen degradáló törzs sikeresen biodetoxifikálta azt.

A *terbuthylazine Rhodococcus*-ok pelletén való kötődésének ténye érdekes új tudományos megállapítás. A szakirodalmat áttekintve nem találtam utalást a nemzetség képviselőinek sejtfalán kötődni képes *terbuthylazine* jelenségére. A molekulák mikrobiális sejteken történő megkötődésének a nyomon követése a jövőbeni *in vitro* vizsgálatok kulcsfontosságú feladata. Feltételezésem szerint a *Rhodococcus*-ok biodegradációs tevékenységét nagyban befolyásolta a *terbuthylazine*-kötődési jelenség a baktérium pelleten.

Az oxigénlimitált körülmények között vizsgált biodegradáció nem vezetett pozitív eredményhez. Az S-*metolachlor* alacsony oxigén-koncentráció (≤ 0,5 mg/L) jelenléte mellett perzisztensnek, nehezen bonthatónak bizonyult. Az aerob módon eredményesen degradáló mikroba mikroaerob állapotok között már nem volt képes a vegyület bontására, ami a másodlagos perzisztencia jelenségére utal. A jövőben célszerű lehet olyan mikroaerob/anaerob izolációs és dúsítási technikák fejlesztése is, amivel meghatározhatóak lehetnek a potenciálisan biodegradációra, így a másodlagos perzisztencia enyhítésére képes mikrobák. A szennyező anyag bontását katalizáló enzimeket kódoló gének jelenléte és előfordulási gyakorisága a legközvetlenebb predikciója lehet a mikrobák biodegradációs képességének. Az egyes kromoszomális vagy extrakromoszomális (plazmidhoz kötött) funkciógének vizsgálatára a modern molekuláris biológiai eszközökkel nyílhat lehetőség. A degradációs képességek pontos feltérképezésére és megértésére tökéletes alapot szolgáltathatnak a genomszekvenálási és génexpressziós vizsgálatok.

Kutatómunkám folytatásaként további figyelmet kell fordítani a peszticid-hatóanyag koktélok vizsgálatán túl a formázó- és segédanyagok, valamint a peszticid készítmények (ideértve az engedélyköteles I. és II. forgalmi kategóriájú szereket is) átfogó biológiai és toxikológiai értelemben vett hatásainak megismerésére és biodetoxifikálhatóságuk vizsgálatára.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

I. tézis: A *mesotrione*, S-*metolachlor* és a *terbuthylazine* herbicid hatóanyagok különböző arányú kombinációinak először állapítottam meg az akut (30 perc) és krónikus (10 és 15 óra) effektív koncentráció értékeit az *Aliivibrio fischeri* tesztszervezetre nézve (kivételt képezi a *mesotrione* + S-*metolachlor* 1:1 arányú keveréke az akut Microtox® tesztet alkalmazva). Az *Aliivibrio fischeri* tesztszervezet a krónikus tesztben 10 és 15 órás kontaktidőknél bizonyult a legérzékenyebbnek, amelyben a tiszta hatóanyagok közül a *terbuthylazine* ($EC_{50\ 10\ és\ 15óra}$= 4,9 és 9,6 mg/L), a keverékek közül a *mesotrione* + *terbuthylazine* Calaris Pro® készítmény szerinti keveréke ($EC_{50\ 10\ és\ 15óra}$= 16,4 és 19,5 mg/L) váltotta ki a legnagyobb toxikus hatást. A *terbuthylazine* mellett *mesotrione*-t és S-*metolachlor*-t tartalmazó három készítmény szerinti keverék krónikus tesztben kapott EC_{50} értéke az akut teszthez képest egy nagyságrenddel kisebb volt. A prokarióta tesztorganizmust alkalmazó krónikus teszt önálló ellenőrző/értékelő vizsgálati módszerként alkalmas keverékhatások megállapítására.

II. tézis: A Kombinációs Index Módszer segítségével elsőként állapítottam meg a *mesotrione*, S-*metolachlor* és a *terbuthylazine* különböző arányú keverékeinek komponensei között fellépő antagonista, additív és szinergista hatásokat az egyes hatásos koncentrációszinteken akut és krónikus *Aliivibrio fischeri* tesztben. Az akut tesztben 50%-os toxikus koncentráción (EC_{50}) az összes keverék esetében szinergia volt detektálható. Az azonos arányú (1:1) *mesotrione* és S-*metolachlor* keverék akut tesztben minden hatásos koncentráción (még EC_{10}-nél is = 5,1 mg/L), míg a krónikus tesztben (10 és 15 órás kontaktidőnél) EC_{50}, EC_{80}, EC_{90} értékeken additív és szinergista hatást mutatott. A krónikus tesztben a többi keverék minden hatásos koncentráción antagonista választ eredményezett.

III. tézis: A *glyphosate*, az AMPA, a POE(15) tiszta vegyületek és 13 *glyphosate*-alapú herbicid készítmény esetében először írtam le az *Aliivibrio fischeri* ökotoxikológiai tesztorganizmusra gyakorolt krónikus, valamint 12 készítmény (kivéve Roundup® Classic) által kiváltott akut citotoxikus hatást. Az akut és krónikus tesztben a *glyphosate*-sav és az AMPA metabolit a legnagyobb alkalmazott koncentrációnál (5 g/L) nem bizonyult toxikusnak. Ezzel szemben a 11 készítmény 44-623 mg/L közötti koncentrációkban 50%-os toxikus hatást fejtett ki a rövid- és hosszú távú tesztekben. *Glyphosate*-só tartalomra számítva a felhasználásra kész Glialka Express 6H® ($EC_{50\ 10\ és\ 15\ óra}$= 3,9 mg/L és 1,2 mg/L) és a nem deklarált formázó-, segédanyag tartalmú Barclay Gallup Biograde 360® ($EC_{50\ 10\ és\ 15\ óra}$= 4,5 mg/L és 26,4 mg/L) bizonyult a két legtoxikusabb *glyphosate*-alapú készítménynek. A citotoxikus hatások és a készítményekben található *glyphosate*-só típusok között nem volt kimutatható összefüggés.

IV. tézis: A *Saccharomyces cerevisiae* BLYES törzs alkalmazásával igazoltam, hogy a POE(15) formázóanyag ösztrogén aktivitással rendelkezik (EC_{50}= 13,4 mg/L), tehát képes a humán-ösztrogén receptorhoz kötődni, míg a *glyphosate* és az AMPA nem. Elsőként közöltem a vizsgált készítmények közvetlen ösztrogén és androgén hatásairól szóló *in vitro* eredményeket *Saccharomyces cerevisiae* BLYES és BLYAS teszttel mérve. A készítmények közül 7 ösztrogén, 4 androgén, míg 3 (Fozát 480®, Dominátor Extra 608 SL®, Roundup® Mega) ösztrogén- és androgén hatásúnak bizonyult.

V. tézis: Az akut és krónikus *Aliivibrio fischeri* teszt, valamint a *Saccharomyces cerevisiae* BLYES/BLYAS bioriporter tesztek EC_{50} értékei alapján 13, illetve 10 készítmény a szántóföldi és kiskerti körülmények között alkalmazott hígítási aránynál (0,2-3,5%-os) egy, vagy két nagyságrenddel (0,01-0,1%), illetve a környezetben is detektálható értékeknél (0,5%) kisebb koncentrációban is citotoxikus és endokrin diszruptor hatással rendelkezik. Bizonyítottam, hogy az

aktív hatóanyagok értékelésén kívül sürgetően fontos feladat a kereskedelmi forgalomban kapható, szabadon megvásárolható készítmények komplex toxikológiai/ökotoxikológiai felülvizsgálata is, humán- és környezetegészségügyi kockázataik feltárása, mivel a formázóanyagok/segédanyagok befolyásolják a toxikológiai hatást.

VI. tézis: Az aerob körülmények között elvégzett biodegradációs kísérletek során először igazoltam azt, hogy a *Streptomyces caniferus* K176 törzs képes az S-*metolachlor* közel 95%-os lebontására az *Aliivibrio fischeri*-re nézve krónikus toxicitású maradékanyagok keletkezése nélkül. A K176 törzs mikoaerob körülmények között azonban nem képes a vegyület biodegradációjára és biodetoxifikációjára. A *terbuthylazine* esetében először bizonyítottam, hogy a *Rhodococcus kyotonensis* JCM 23211^{T}, a *Rhodococcus phenolicus* JCM 14914^{T}, a *Rhodococcus agglutinans* KCTC 39118^{T} törzsek képesek a vegyületet biomasszájukon adszorbeálni, míg a folyadék fázisú maradékanyag nem volt sejttoxikus a krónikus *Aliivibrio fischeri* tesztben.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Idegen nyelvű, lektorált, tudományos folyóiratban megjelent közlemények:

HÁHN, J., SZOBOSZLAY, S., **TÓTH, G.,** KRISZT, B. (2017): Assessment of bacterial biodetoxification of herbicide atrazine using *Aliivibrio fischeri* cytotoxicity assay with prolonged contact time. *Ecotoxicology*, 26:648-657. https://doi.org/10.1007/s10646-017-1797-0 **IF= 1,951; Q2**

KASZAB, E., RADÓ, J., KRISZT, B., PÁSZTI, J., LESINSZKI, V., SZABÓ, Á., **TÓTH, G.,** KHALEDI, A., SZOBOSZLAY, S. (2019): Groundwater, soil and compost, as possible sources of virulent and antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal Of Environmental Health Research*, 1691719, 13. https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1691719 **IF=1,916; Q3**

TÓTH, G., HÁHN, J., KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2019): Acute and chronic toxicity of herbicides and their mixtures measured by *Aliivibrio fischeri* ecotoxicological assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 185, 109702. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109702 **IF=4,872; Q1.**

TÓTH, G., HÁHN, J., RADÓ, J., SZALAI, D., A., KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2020): Cytotoxicity and hormonal activity of glyphosate-based herbicides. *Environmental Pollution*, 265, 115027. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115027 **IF=8,071; Q1, D1.**

FARKAS, M., KASZAB, E., RADÓ, J., HÁHN, J., **TÓTH, G.,** HARKAI, P., FERINCZ, Á., LOVÁSZ, ZS., TÁNCSICS, A., VÖRÖS, L., KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2020): Planktonic and Benthic Bacterial Communities of the Largest Central European Shallow Lake, Lake Balaton and Its Main Inflow Zala River. *Current Microbiology*, 77:12, 4016-4028. https://doi.org/10.1007/s00284-020-02241-7 **IF=2,188; Q3**

Összesített hatástényező (impakt faktor): 18,998

Idegen nyelvű konferenciakiadványban megjelent összefoglalók:

TÓTH, G., HÁHN, J., SZOBOSZLAY, S., KRIFATON, CS., RADÓ, J., KRISZT, B. (2015): Investigation of the biodegradation and cytotoxicity of various herbicides. *ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA*, 62:(Suppl.2) pp. 232-233. 17th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology. Budapest, Magyarország.

TÓTH, G., HÁHN, J., SZOBOSZLAY, S., KRISZT, B. (2016): Investigation of the biodegradation products of herbicides by chronic *Aliivibrio fischeri* test. *A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi Nagygyűlése és a XII. Fermentációs Kollokvium*. Absztraktfüzet. Keszthely, 2016. október 19-21., pp. 60-61.

FARKAS, M., RADÓ, J., HÁHN, J., KASZAB, E., **TÓTH, G.,** KRISZT, B., BORDÓS, G., BOKOR, Á., SZOBOSZLAY, S. (2018): Microbial and ecotoxicological monitoring of Lake Balaton and its watershed. *A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2018. évi Nagygyűlése és a XIII. Fermentációs Kollokvium*. Absztraktfüzet,14 p.

FARKAS, M., RADÓ, J., KASZAB, E., HÁHN, J., **TÓTH, G.,** HARKAI, P., BORDÓS, G., KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2019): Seasonal dynamics of pelagic bacterial community in Lake Balaton. *ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA*, 66:1, 130.

FARKAS, M., KASZAB, E., RADÓ, J., HÁHN, J., **TÓTH, G.,** BORDÓS, G., BOKOR, Á., TÁNCSICS, A., KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2019): Seasonal and spatial bacterial variability of the Lake Balaton. *BAGECO 15: 15th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology: Ecosystem drivers in a changing planet*. 113., 1 p.

BALÁZS, A., RADÓ, J., TÓTH, G., KASZAB, E., HARKAI, P., SZABÓ, I., TÁNCSICS, A., RISA, A., KRISZT, B., SZOBOSZLAY S. (2019): Androgen biodetoxification potential of *Rhodococcus* and *Comamonas* species. *ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA*, 66:1 pp., 118-119., 2 p.

Magyar szabadalom (oltalmi formák):

HÁHN, J., **TÓTH, G.,** KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S., MICSINAI, A., NYÍRŐ-FEKETE, B., ZANATHY, L., PALOTAI, Z., BORDÓS, G. (2021): Mikroorganizmusok vagy mikroorganizmus elegy xenobiotikus peszticidek

lebontására, a bontási eljárás és ennek alkalmazása. Benyújtás éve (szabadalom): 2019, Ügyszám: P1900416, Benyújtás országa: Magyarország

Magyar nyelvű konferenciakiadványban megjelent összefoglalók:

TÓTH, G., HÁHN, J., KRISZT, B., KRIFATON, CS., RADÓ, J., SZOBOSZLAY, S. (2015): Gyomirtószer hatóanyagok és biodegradációs maradékanyagaik citotoxicitás vizsgálata. *V. Ökotoxikológiai konferencia előadás és poszter kötete*. p. 39-40, 2015. november 20., Budapest, ISBN 978-963-89452-5-9.

TÓTH, G. (2016): Peszticid hatóanyagok vizsgálata *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia gátláson alapuló citotoxicitási teszttel. *A PhD Hallgatók 2. Környezettudományi Konferenciája „KORUNK KIHÍVÁSAI A KÖRNYEZETTUDOMÁNYOK GYAKORLATI ALKALMAZÁSÁBAN"* című szakmai rendezvény. Budapest, 2016. április 26.

HÁHN, J., **TÓTH, G.,** SZOBOSZLAY, S., KRISZT, B. (2017): Növényvédő szerek biodetoxifikációjára képes mikroba-törzsgyűjtemény kialakítása. *VII. Ökotoxikológiai konferencia előadás és poszter kötete*. p. 16-17., 2017. november 24., Budapest, ISBN 978-963-89452-8-0.

RADÓ, J., SZOBOSZLAY, S., FARKAS, M., **TÓTH, G.,** HÁHN, J., PEER, G., BALÁZS, A., RISA, A., BENEDEK, T., KRISZT, B. (2017): A Balaton vízgyűjtő mikrobiológiai és ökotoxikológiai vizsgálata (1). *VII. Ökotoxikológiai konferencia előadás és poszter kötete*. p. 31., 2017. november 24., Budapest, ISBN 978-963-89452-8-0.

RADÓ, J., HÁHN, J., FARKAS, M., **TÓTH, G.,** KASZAB, E., HARKAI, P., BALÁZS, A., RISA, A., KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2018): A Balaton vízgyűjtő mikrobiológiai és ökotoxikológiai vizsgálata (2). Darvas Béla (szerk.) *VIII. Ökotoxikológiai Konferencia előadás és poszter kötete*. Budapest, Magyarország, Budapest: Magyar Ökotoxikológiai Társaság, 48 p., p. 31.

TÓTH, G., HÁHN, J., KRISZT, B., RADÓ, J., RISA, A., BALÁZS, A., SZOBOSZLAY, S. (2018): A Balaton és befolyóinak ökotoxikológiai állapotvizsgálata. *Magyar Toxikológusok Társasága, TOX'2018 Tudományos Konferencia Program, kivonatok*, p.: C4-10.

HÁHN, J., **TÓTH, G.,** SZOBOSZLAY, S., KRISZT, B. (2018): Peszticid hatóanyagok és készítmények komplex biológiai hatásai. *Magyar Toxikológusok Társasága, TOX'2018 Tudományos Konferencia Program, kivonatok*, p.: C1-9.

HÁHN, J., **TÓTH, G.,** KRISZT, B., RISA, A., BALÁZS, A., NYÍRŐ-FEKETE, B., MICSINAI, A., SZOBOSZLAY, S. (2019): Ökotoxikológiai állapotfelmérés és mikroszennyezők előfordulásának vizsgálata gazdasági jelentőségű felszíni vizekben. *Hungalimentaria 2019: Konferencia és kiállítás: „Ésszel a kosárba! – Mit mond erről a labor?"*, Wessling Hungary Kft., Budapest, Magyarország, pp. 31-32., 2 p.

TÓTH, G., HÁHN, J., HARKAI, P., GÖBÖLÖS, B., KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2020): Növényvédőszer-monitorozás a Balaton részvízgyűjtő területén. *Ökotoxikológia*, 2. évfolyam, 2. szám, p.: 27-28. *Magyar Ökotoxikológiai Társaság, Tudományos szakfolyóirat*, ISSN 2732-2556.

KASZAB, E., HÁHN, J., JIANG, D., FEKETE, M., **TÓTH, G.,** KRISZT, B., SZOBOSZLAY, S. (2021): *Glyphosate*-tartalmú készítmények hatásvizsgálata a *Pseudomonas aeruginosa* baktériumfaj szubletális végpontjaira. *Ökotoxikológia*, 3. évfolyam, 2. szám, p.: 13-14.*Magyar Ökotoxikológiai Társaság, Tudományos szakfolyóirat*, ISSN 2732-2556.