

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Biológiai Intézet

**A Trebon 10 F növényvédő szer hatásai a *Folsomia candida*
(Collembola) faj reprodukciójára és táplálékválasztására.**

Készítette: Szabó Borbála
Biológus BSc

Témavezető: Bakonyi Gábor
egyetemi tanár
SZIE MKK, Állattani és Állatökológiai Tanszék

Budapest
2012

Tartalomjegyzék:

1. Bevezetés	1.
Általános bevezetés	1.
Irodalmi áttekintés.....	2.
A vizsgálat célkitűzései és hipotézisei	3.
2. Anyag és módszer	4.
Trebon 10F növényvédő szer	4.
Modell állat: <i>Folsomia candida</i>	4.
OECD standard mesterséges talaj.....	4.
Dózis-hatás kísérlet	6.
A fő kísérlet	7.
A fő kísérlet statisztikai elemzése.....	10.
3. Eredmények	13.
Dózis-hatás kísérlet	13.
Táplálékválasztás eredményei	14.
Reprodukciós kísérlet eredményei.....	20.
4. Diszkusszió	27.
Dózis-hatás kísérlet	27.
Táplálékválasztási kísérlet.....	27.
Reprodukciós kísérlet.....	28.
További feladatok.....	29.
5. Összefoglalás	30.
6. Angol összefoglalás (English summary).....	31.
7. Nyilatkozatok	33.
8. Irodalomjegyzék.....	35.
9. Köszönetnyilvánítás	38.
10. Függelék.....	39.

1. Bevezetés:

Amióta a Zöld Forradalom Magyarországot is elérte az 1960-70-es években, így már nálunk is széles körben használatossá váltak a különböző növényvédő szerek, és így az általuk okozott kisebb-nagyobb károk, mellékhatások is megjelentek. Ezek fakadhattak a helytelen használatból (túladagolás, nem megfelelő időben való használat), vagy a helytelen talajművelésből (bejutott a talajvízbe, kimosódott a felszíni vizekbe), illetve a korai kutatások hiányából is (például a DDT madártojásokra gyakorolt hatása, illetve a táplálékláncban való felhalmozódása) (WALKER ET AL. 2006).

Azóta természetesen szigorodtak a növényvédő szerek engedélyezési szabályai, de lehetetlen lenne az összes élőlényen tesztelni egy szer hatásait. Ahogy az sem várható el, hogy nagyszámú élőlényen teszteljék, hiszen ez megfizethetlenné tenné a használatukat (DARVAS- SZÉKÁCS 2010).

Ezt a hiányt később a kutatók pótolják az eredményeikkel. Az én dolgozatomnak is ez a célja, hogy a Trebon 10 F nevű növényvédő szer ökotoxikológia hatását vizsgáljam a *Folsomia candida* Willem 1902 (Hexapoda, Collembola, Isotomidae) ugróvillás fajon.

Az ugróvillások világszerte elterjedtek. Az óceánok és a tengerek nyíltvizein kívül mindenütt előfordulnak. Fontos tagjai a lebontó közösségeknek (HOPKIN, 1997, DÁNYI, TRASER 2007), továbbá fontos táplálékai a talajlakó ragadozóknak, terjesztik a mikorrhiza gombákat, illetve szabályozzák azok szaporulatát (DÁNYI- TRASER 2007). Ez a csoport nem szerepel a növényvédő szerek engedélyezési procedúrájában (DARVAS-SZÉKÁCS 2010). Mint nem célszervezetet érdemes görcső alá venni ökotoxikológia szempontból.

A Trebon 10 F növényvédő szer egy általános használt inszekticid, melyet széles körben használnak a gyakori kártevők ellen, például tetvek, molyok ellen. Használatos gyümölcsösökben, út menti fákban, búzán és kukoricán. Az utóbbi két növényfaj jelentős részét teszi ki a magyar termelésnek. A szer 2019-ig engedélyezett (MITSUI CHEMICALS) Mindezt érdemes megvizsgálni a szer hatását ugróvillásokon is.

A peszticideknek gyakran vannak nem kívánt hatásai a nem célszervezetekre. A hatások lehetnek akutak és krónikusak is. Az akut toxicitás általában egyszeri meghatározott idejű kitétség következménye, mely általában az állat pusztulásával jár. Különösen veszélyeztetettek a vízi szervezetek és a beporzó rovarok, de ártalmas lehet az ökoszisztémákra azáltal is, hogy egyes ragadozó fajok között okoz pusztulást. (DARVAS-SZÉKÁCS 2010)

A krónikus toxicitás alatt hosszú idejű kitettség melletti hatásokat értjük. Gyakran szubletális formában jelenik meg. Krónikus hatás rengeteg-féle lehet. Okozhat a peszticid mutációt, akár a DNS károsításán keresztül vagy lehetnek teratogén hatásai, esetleg a hormonháztartást boríthatja fel, tönkretelheti vagy megzavarhatja az immunrendszert, idegméregként viselkedhet, s szaporodásbiológiai zavarokat okozhat. Az utóbbit akár a gametogenezis, akár az embriogenezis gátlásával/zavarásával. (DARVAS-SZÉKÁCS 2010)

Az irodalomban sok példát találunk szubletális hatások vizsgálatára. A talajlakó állatok közül gyakran használják toxikológiai tesztekhez a gyűrűsférgeket (pl.: Oligochaeta). Ezt a csoportot az engedélyeztetésnél is használják, az ászkákat (Isopoda), atkákat (pl.: Mesostigmata), illetve ugróvillásokat (Collembola).

Például MÄENPÄÄ ET AL. (2009) pyrene szubletális hatását vizsgálta *Lumbriculus variegatus* (Oligochaeta) fajon. Kimutatta, hogy a véredény pulzálása szignifikánsan lecsökkent a szer hatására, tehát a pyrene-nek narkotikus hatása van.

FISCHER ET AL. (1997) Dimethoate széles-spektrumú inszekticid szubletális hatásait vizsgálták egy ászka fajon, *Porcellio scaber* (Isopoda). Az inszekticid a testtömegnövekedést akár ötven százalékkal is lecsökkentette a koncentráció függvényében, ám az utódszámot nem befolyásolta szignifikánsan.

ODENAL - REINECKE (1999a, 1999b) több vizsgálatot is végzett a *Porcellio laevis* fajjal. Nehézfémek szubletális hatásait vizsgálták, a kadmiumét és az ólomét. Mindkét fém esetében csökkent a testtömeg növekedés. A kadmium esetén táplálékválasztási teszttel kimutattak egy elkerülési viselkedést. Ez az eredmény az ólom esetében nem volt olyan egyértelmű, de képes volt az alacsonyabb koncentrációkat elkerülni, míg a töményeket nem. Ezt a furcsa eredményt azzal magyarázták, hogy valószínűleg a magasabb koncentrációk, már megzavarják az érzékelési mechanizmust, így akkor már nem képes elkerülni a szennyeződést.

Az ugróvillásoknál a szubletális hatások vizsgálatokor általában a növekedést és a reprodukciós sikert vizsgálják (FOUNTAIN-HOPKIN, 2001, SCOTT-FORDSMAND ET AL., 1999; BUR ET AL. 2010; NURSITA ET AL., 2005; STAEMPFLI ET AL, 2007; CROUAU-MOIA, 2006; VOLKER-HANSEN ET AL., 1996), de előfordulhatnak más megfigyelések is például különböző lipid és fehérjék arányának vizsgálata (STAEMPFLI ET AL, 2007).

Ugyancsak fontos téma a generációkon átívelő hatás, hiszen ha több generáció fitnesszét is rontjuk letális vagy szubletális hatásokkal, akkor még súlyosabb károkat okozhatunk a nem célfajok populációiban. Ismert állatoknál és növényeknél is, hogy a szülő környezete

befolyásolhatja az utódok fejlődését, azon környezet hatásaihoz adódva, melyben az utódok felnőnek (MOUSSEAU-FOX, 1998 IN HAFER, 2011).

A generációkon átívelő hatásokra kiváló bizonyíték HAFER ET AL. (2011) cikke, melyben a táplálék elérhetőség hatásait vizsgálták három generáción keresztül *Folsomia candida* fajon. Sikerült is kimutatni, hogy anyai és nagyanyai hatások is befolyásolják az életmenet stratégiát.

Ezen kívül még a témát erősíti CAMPICHE ET AL. (2007) cikke, melyben növekedés gátló inszekticidekkel (methoprene, fenoxycarb, teflobenzuron, precocene II) kezelték *Folsomia candida* fajt és kimutatták, hogy van szignifikáns növekedés a mortalitásban, illetve csökkenés az utódok számában, amennyiben teflubenzuron-nal vagy methoprene-nel kezelték őket. A methopren EC50 értéke F0 generációban 162mg/kg volt, az F1 generációban 191 mg/kg, a teflubenzuron EC50 értéke egybeesett a legtöményebb koncentrációval 0,12 mg/kg-mal.

Illetve olyan esetekről is szó esik, melynél rezisztencia alakul ki, például egy Spodoptera moly lárvájában kadmiummal szemben (KAFEL ET AL. 2012.), vagy egy földigiliszta fajban az arzénnel szemben (LANGDON ET AL. 2009), vagy az *Orchesella cincta* ugróvillás faj esete, mely képes kadmium toleranciát kifejleszteni (STERENBORG-ROELOFS, 2003).

A vizsgálatok célkitűzései és hipotézisei

Vizsgálataim célja az, hogy kiderítsem egy hosszú ideig engedélyezett szer, a Trebon 10 F mellékhatásait egy, a talajok életközösségeiben igen fontos szerepet betöltő ugróvillás fajon (*F. candida*). A faj az egész világon elterjedt.

Vizsgálatom hipotézise, hogy a Trebon inszekticid ártalmas a *Folsomia candida* fajra, mivel ez egy rovarölő szer és az ugróvillások közeli rokonai a rovaroknak (TIMMERNMANS ET AL. 2008).

Így a következő predikcióim voltak:

- A *F. candida* mortalitása növekedni fog a kezelés hatására.
- A *F. candida* utódszáma csökkenni fog a kezelés hatására a kontrollhoz képest.
- A *F. candida* szülő és első generációjának peteszáma csökkenni fog a kezelés hatására a kontrollhoz képest.
- A *F. candida* szülő és utód generációjának petemérete csökkenni fog a kezelés hatására a kontrollhoz képest.
- A *F. candida* minden generációjának csökkenni fog a táplálékváltási sikere a kontrollhoz képest.

2. Anyag és módszer

A Trebon 10 F növényvédő szer 2019-ig engedélyezett, széles körben használt növényvédő szer. Használják gyümölcsösök, kalászosok, kukorica és út menti fák növényvédelmére. Inszekticid, melynek hatóanyaga az etofenprox. Ez a vegyület egy piretroid, ami állandó testhőmérsékletű állatokban gyorsan bomlik, UV érzékeny (DARVAS-SZÉKÁCS, 2006). Hatását az axonikus idegvégződések Cl⁻ ioncsatornáin fejt ki, tartós ingerületet létrehozva (FAO 2007). Tárolhatósága kiváló, a 0 °C +/- 2°C 7 napig tárolva semmilyen ülepedés vagy olajos kiválás nem tapasztalható, és 54°C +/- 2°C 14 napig tárolva 5% kevesebb hatóanyag veszteséget tapasztalhatnak (FAO 2007). A következő kártevők ellen ajánlott: *Nilaparvata lugens*, *Laodelphax striatellus*, *Nephotettix nigropictus*, *Cnaphalocrosis medinalis*, *Lissorhoptrus oryzophilus*, *Leptocorisa sp.*, *Pieris rapae*, *Myzus persicae*, *bermista tabici*, *Thrips tabici*, *Phyllocnistis citrella*, *Psylla pyrisuga*, *Cydia pomonella*, *Grapholita molesta*, *Empoasca sp.*, *Aphis gossypii*, *Eurvoaster sp.*, *Scirtotrips dorsalis*, *Empoasca onukii*, *Lymantria dispar*. A talaj mély rétegeibe nem mosódik le. A vízi élőlényekre erősen mérgező. Bomlási félideje 1-3 hét aerob talajban. Az élelmezés-egészségügyi várakozási idők az 1. táblázatban láthatók (MITSUI CHEMICALS).

1. táblázat : A Trebon 10F egészségügyi várakozási ideje

Növény	PHI (napok)	Növény	PHI (napok)
Rizs	21	Paprika	1
Gabonafélék	14	Paradicsom	1
Kukorica	7	Uborka	1
Krumpli	7	Dinnye	3
Szója	14	Káposzta	3
Borsó	1	Retek	21
Cékla	14	Saláta	14
Citrusfélék	14	Dohány	-
Tea	21	Dísznövények	-
Padlizsán	1		

Modell állatnak a *Folsomia candida* Willem 1902 (Collembola) fajt választottam, mivel széles körben elterjedt a Föld szerves anyag gazdag talajaiban, fontos szerepet tölt be sok életközösségben, a talajok anyagforgalmában, a laboratóriumi tenyészet könnyen fenntartható, amiatt hogy szűznemzéssel szaporodik a Wollbachia baktériumfertőzés miatt és

(FOUNTAIN-HOPKIN, 2005). A szennyező anyagokat felveheti az epidermiszen, a ventrális tubuluson és a táplálékon keresztül (PETERSEN ET AL. 1997 IN FOUNTAIN-HOPKIN 2001).

A törzstenyészet a Szent István Egyetem Állattani és Állatökológiai Tanszék laboratóriumából származott. A tenyészetet 9,2 cm átmérőjű és 1,3 cm magasságú Petri csészében tartottam. A csésze alján aktív szénrel kevert gipsz (20 g aktív szén, 200 g gipsszel keverve és 200 ml vízzel hígítva) kb. 1 cm magasságban volt elhelyezve (GOTO 1960). A tenyészetet instant szárított élesztővel tápláltuk hetente egyszer. A tenyészeteket 20 °C-on termosztátban tartottuk.

A kísérletekhez standard OECD talajt használtam (OECD 232), melyben 74% homokot, 20% kaolint, 5% tőzeget és a pH beállításához ~1% CaCO₃-t tartalmaz.

A talaj vízkapacitását úgy mértem, hogy 50-50 g talajt három üvegcsőbe helyeztem. Az üvegcsövek alját szűrőpapírral lezártam. Azután vízfürdőbe helyeztem a csöveket. A vízfürdő vízszintje, megegyezett a talaj magasságával. Egy óra múlva a csöveket óvatosan kivettem a vízfürdőből és nedves homokra helyeztem át, melyen három órán át hagytam állni. Ez után az üvegcsőben lévő talaj tömegét lemértem és állandó hőmérsékleten kiszáritottam (105 °C). A kiszáradt talaj tömegét ismét lemértem, illetve a használt üvegcsöveket is. Majd a három cső adatait átlagoltam. Ez alapján a következő képlettel ki lehetett számítani a talaj vízkapacitását:

$$\text{WHC} = ((S-T-D)/D) * 100,$$

ahol S a nedves talaj tömege, T az üvegcsőé, D pedig a száraz talaj tömege (OECD 232). Ezzel a módszerrel kiszámítva, a talaj vízkapacitása 18,22 g lett, ami a használt 30 g talaj esetén 5,5 ml vizet jelentett

A mesterséges talaj pH értékét Mettler Toledo Education Line műszerrel ellenőriztem. 4-4 g mesterséges talajt raktam 3 kémcsőbe, melyet 2 nappal a teszt előtt előnedvesítettem 6 ml 1 M KCl oldattal. Az előnedvesítés után minden kémcsövet 5 percig Vortex-szel összeráztam annak érdekében, hogy a mérés kezdéséig a pH tökéletesen beálljon. Ez után két nappal a pH mérőt belelógattam a kémcsőbe és megvártam, míg a kijelzőn fél percig nem változik a pH érték, ezt az értéket tekintettem a végleges pH-nak. Ezt minden kémcsövön elvégeztem, s végül a három értéket átlagoltam. A pH megfelelő volt, 7,29, így nem igényelt CaCO₃-al vagy szerves savakkal való pH korrekciót.

Dózis-hatás kísérlet:

Egy dózis-hatás kísérletet is végeztem, melynek célja az volt, hogy kiderítsük, hogy van-e a mortalitásnak és a reprodukciónak valamilyen koncentráció-függése. Ezt a kísérletet az OECD ugróvillás reprodukciós teszt (OECD 232) alapján kiviteleztem, annyi változtatással, hogy az expozíciós idő nem 28 nap, hanem 20 nap volt, mivel ennyi a Trebon 10 F bomlási félideje.

Nyolc koncentrációt (V/V) használtam, 1,8 szoros hígítási léptékkel. Minden koncentrációból öt ismétlést készítettem. A kontroll esetében tíz ismétlést használtam.

A kísérletben használt koncentrációkat a 2. táblázatban látható adatok alapján számítottam ki. A táblázatban található adatokból a vízmennyiség és a felhasználandó növényvédő szer mennyiségeket is átlagoltam. Ezekből az átlagokból számoltam ki az adott növénynél használatos növényvédő szer koncentrációt. Ez alapján az almánál, a szőlőnél, a kukoricánál és a fánál használt kiszórási koncentrációk csak egy tízezzel tértek el egymástól, így ezeket a további munkák szempontjából nem tekintettem különbözőnek. A nyolc koncentrációt úgy számoltam ki, hogy a kalászosokra kiszámolt 2,85 ml szer/l víz (V/V) koncentrációt tekintettem középsőértéknek, s a többi úgy kaptam meg, hogy háromszor osztottam az értéket 1,8-cal (ebbe bele esett a fákra és gyümölcsösökre használt koncentrációt is: 0,882 ml szer/l víz) és négyszer szoroztam 1,8-cal.

Így a nyolc koncentráció a következő volt, térfogathányadosként megadva: 0,489 ml szer/l víz, 0,882 ml szer/l víz, 1,58 ml szer/l víz, 2,85 ml szer/l víz, 5,13 ml szer/l víz, 9,23 ml szer/l víz, 16,6 ml szer/l víz és 29,9 ml szer/l víz.

2. táblázat: A Trebon 10F kiszórási koncentrációi

Növény	Vízmennyiség	Trebon mennyiség
Alma	700-1000 l	0,5-1 l/ha
Szőlő	1000 l	0,5-1 l/ha
Kalászosok	300-400 l	1 l/ha
Út menti fák	700-1000 l	0,5-1 l/ha
Díszfák, erdő	600-1000 l	0,5-1 l/ha
Kukorica	400-600 l	0,5 l/ha

A dózis-hatás kísérletben 30 g nedves, Trebon-nal kevert mesterséges talajra raktam edényenként 10-10 darab 12-14 napos állatot. A műanyag edények mérete a következő volt: 5 cm magas, 5,3 cm alap átmérőjű és 6,6 cm felső átmérő. Az expozíciós idő 20 nap volt. Az

edényeket hetente egyszer felnyitottam etetés és levegőztetés céljából. Az expozíciós idő végén az edényeket vízzel árasztottam el, óvatosan összekevertem a talajjal és megszámláltam a felszínre feljövő adult és juvenilis állatokat.

Az eredményeket egyszerű lineáris modellel, ANOVA módszerrel, R Statisztikai programmal (<http://www.r-project.org/>) elemeztem. Két modellt építettem. Az egyikbe az egyedszám koncentrációtól való függése került, a másodikba pedig az utódszám koncentrációtól való függése.

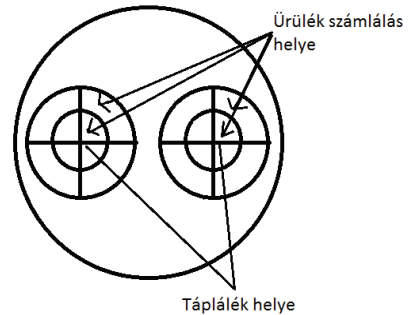
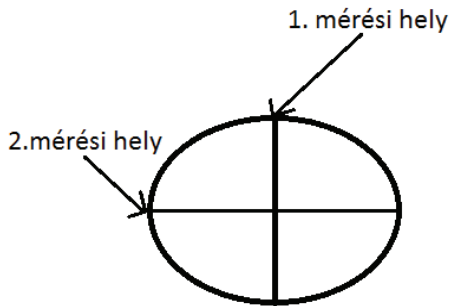
A fő kísérlet:

A dózis-hatás kísérelt eredményei alapján és a gyakori használat miatt a 0,883 ml/l koncentrációt választottam további munkára, vagyis a gyümölcsösöknél és a fáknál használatos koncentrációt. Az előbbi koncentrációval, a tizedével és a tízszeresével egy szülő-utód generációra kiterjedő reprodukciós és táplálékválasztási kísérlet sorozatot végeztem.

A könnyebb megértés végett előbb az alap kísérleteket mutatom be külön-külön, majd az elrendezést is.

A reprodukciós tesztben mind a három koncentrációnál 90 darab, 10-12 napos állatot raktam Terbon-nal kevert standard OECD talajra 20 napig tartottam az állatokat. Egy kontroll, szer nélküli csoportot is neveltem vízzel kevert mesterséges talajon. Ezután az állatokat a mesterséges talajból szárazon nyertem ki az állatok kímélése érdekében. A talajt óvatosan kiborítottam egy nagy Petri csészére és a rögöket óvatosan szétválasztva kerestem meg az állatokat és választottam ki véletlenszerűen 30-at minden koncentrációból és raktam ki őket aktív szenes, gipszes Petri csészékbe (ld. előbb), ezzel indukálva a peterakást. Egy Petri csészébe egy állat került, mindegyik Petri csésze egyedi azonosítót kapott. Az állatokat instant élesztővel tápláltam.

A 9. napon a Petri csészékben lévő petéket egy nedves ecsettel finoman szétterítettem majd egy sztereomikroszkóp alá tettem (Olympus SZH10) és egy mikroszkópra csatlakoztatható Olympus C7070 widezoom fényképezőgéppel és Olympus C5060 ADL optikával fényképeztem le. A képeken minden petének adtam egy számot, majd Exel programmal VÉL függvénnyel mindegyik mellé generáltam egy random számot. A tíz legkisebb számot kapó petét mértem minden Petri csészeből. A méréseket imageJ nevű ingyenes szoftverrel (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) végeztem, ahol két átmérőt mértem meg az esetleges meginduló fejlődésből kifolyó eltérések kiszűrésére. A mérési pontok az 1. ábrán láthatóak.



1. ábra. Petén végzett mérések helye

2. ábra: A táplálékválasztási teszt a táplálék helye és az ürülék számlálás helye

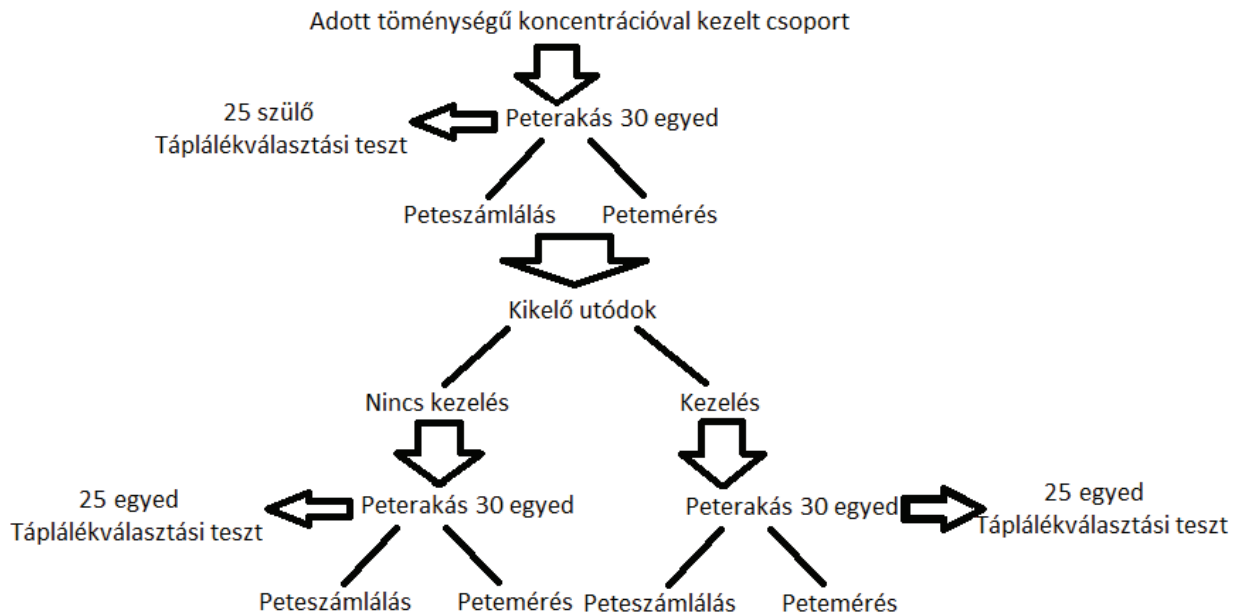
A táplálékválasztást annak érdekében végeztem el, hogy a Trebon hatóanyagának az etofenproxnak a viselkedésre gyakorolt hatásait vizsgáljam. A hatóanyag piretroid, ami egy idegméreg, így várható volt a viselkedési válasz. A az anyag hatását a viselkedés megváltozásán keresztül akartam vizsgálni. A kísérletet mini Petri csészékben végeztem, amelyek átmérője 4,1 cm és magassága 1 cm. A Petri csészébe egy réteg nedves szűrőpapírt helyeztem a páratartalom fenntartására, illetve egy a táplálékok helyét kijelölő nedves papírt (2. ábra). Táplálékkul Zamora kukoricafajta levéldarálékát és a tenyészetekben szokásos táplálékukat, az élesztőt kapták. A kétféle táplálékot a kísérlet elején a 2. ábrán látható helyekre helyeztem, s a kísérlet kezdetén az állatot a Petri csésze közepére helyeztem, hogy egyenlő eséllyel juthasson el mind a két táplálék típushoz. Így nem befolyásolja az elhelyezés a választást. Egy Petri csészében egy állat volt egy hétig, majd a jelölő körökön belül lévő ürülékeket megszámláltam tápláléktípusonként. (BAKONYI ET AL., 2011)

A fő kísérlet előtt végeztem egy elő táplálékválasztási tesztet is, hogy lássam mi a normális preferencia. Ez azt jelenti, hogy az alaptenyészetből választottam véletlenszerűen 25 állatot és azokon elvégeztem a fenti procedúrát.

A fő-kísérletben faktoriális kísérleti elrendezést alkalmaztam (3. ábra). Minden koncentrációnál és minden generációnál végeztem egy táplálékválasztási tesztet, valamint peteszámlálást és petemérést is.

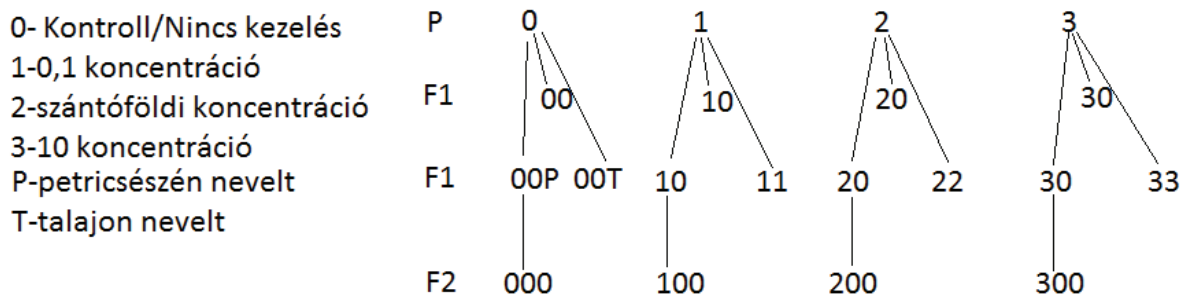
A szülő generációt kezeltem Trebon szerrel az említett három koncentrációban. A kezelt szülő generációból 25 egyedet válogattam a táplálékválasztási teszthez, illetve a kikelő utódok közül is válogattam 25 egyedet. Minden kísérlet sorozathoz tartozott egy kontroll csoport. Ez az elrendezés látható a 4. ábrán.

3. ábra: A fő kísérlet kísérleti elrendezése



4. ábra

Táplálékválasztás kísérleti elrendezése



1-szántóföldi koncentráció tizede, 3-szántóföldi koncentráció 10-szerese, P-szülő generáció, F1-első generáció, F2-második generáció,

Az egymás utáni számok a különböző generációk által kapott kezelést jelentik, vagyis az első szám a szülő generáció által kapott kezelés, a második szám az első generáció által kapott kezelés száma, a harmadik jegy pedig a második generáció kezelésének a száma. Pl.: 20= szülők szabadföldi koncentrációval lettek kezelve, míg az utódok nem kaptak kezelést, a 300= a szülő generáció a legtöményebb koncentrációval lett kezelve, de sem az első sem a második generáció nem kapott kezelést.

Az utód-generációból (F1) válogattam ki egyedeket ahhoz, hogy Trebonnal kezelt mesterséges talajon tartsam őket 20 napig a korábban leírt módon. Majd a 20 nap eltelté után kiválasztottam, koncentrációnként 30 állatot peterakásra a kezelt csoportból, illetve a kezeletlen utódok közül is választottam koncentrációnként 30-at petezéshez. Ehhez a kísérlethez tartottam egy kontroll csoportot mesterséges talajon (lásd a korábban leírt módon), amely talajt nem kezeltem Trebonnal illetve Petri csészében is volt egy 30 egyedből álló csoport, a talaj hatásának kiszűrésére.

A peterakás után az első utódgeneráció egyedeiből elkülönítettem táplálékválasztási tesztre a kezelt és a nem kezelt csoportokból is 25-25 állatot.

Így az utód generációval végzett kísérletben nyolc csoportom volt. Azok a csoportok, amelyeknek a szüleit különböző koncentrációjú növényvédő szerrel kezelték, s ők maguk is kezelve lettek illetve egy mesterséges talajos kontroll csoport, illetve azok a csoportok, amelyeknek a szülei kezelve lettek, de ők maguk nem, egy Petri csészében nevelt kontroll csoporttal. Lásd az elrendezést a 3. ábrán újra (négy koncentrációban, koncentrációnként két utód csoport, vagyis összesen nyolc csoport).

Ez összesen az szülő generációban 120 Petri csészényi reprodukciós tesztet és 200 mini Petri csészényi táplálékválasztást jelentett. Az első generációban 240 Petri csésze és 400 mini Petri csésze fenntartását és kísérletes lebontását jelentette. A fotók közül a szülő generációban 112 fotót elemeztem, az első generációban 407 fotót elemeztem. A fotók száma azért térhet el a Petri csésze számoktól, mivel az állatok el is pusztulhattak, vagy nem raktak petét határidőre, illetve egy Petri csészében lévő peték nem mindig fértek rá egy fotóra a megfelelő nagyításnál.

Ezen kívül még a nem kezelt első generációs állatok utódaival végeztem egy táplálékválasztási kísérletet, annak érdekében, hogy kiderítsem, hogy két generáció elég-e a növényvédő szer hatásának megszűnéséhez. Lásd a 4. ábrán az utolsó sor (F2).

A főkísérlet statisztikai elemzése:

A táplálékválasztási kísérlet eredményeit páros t-próbával elemeztem, kétoldali hipotézissel. Minden egyedről feljegyeztem, hogy mennyi ürüléket találtam az élesztő és a kukorica térfelén és ezt az adatot használtam a próbához. Így megkaptam, hogy az egyed melyik élelmet preferálta, illetve a két táplálék közötti különbségekre, kísérletenként egy-egy konfidencia intervallumot, illetve az átlagos különbséget a két táplálék választása között.

A konfidencia intervallumokat többféleképpen ábrázoltam. Az ábrákat R statisztikai programmal készítettem. Úgy, hogy egy táblázatba kigyűjtöttem az átlagokat és a tesztből nyert konfidencia intervallum alsó és felső határát, az ábrákon látható csoportosítások szerint. Majd a plotrix könyvtárban található, plotCI() függvényt alkalmaztam, mely úgy működik, hogy meg kell adni neki, az intervallum középpontját (átlag), illetve az intervallum terjedelmét, melyet úgy kaptam meg, hogy a felső intervallumhatárból kivontam az átlagot.

A szülő generáció által rakott peték számának és méretének elemzése több modell segítségével történt. A pete átmérőket úgy transzformáltam, hogy a két átmérőt összeszoroztam, majd gyököt vontam belőle. Ennek az az értelme, hogy az új adat olyan, mintha a peték tökéletesen kerek lennének, s mind a két adat szerepel benne, szemben azzal a módszerrel, mintha csak a nagyobb átmérőt használnánk. Illetve a koncentráció logaritmusát raktam a modellekbe, de mivel a koncentrációnak amúgy is tízes léptéke volt, ez csak egy technikai dolog, mely miatt a p-érték megbízhatóbb lesz, mivel ily módon a modellekbe kevesebb összehasonlítás került. Ezzel a módszerrel nem kaptam meg minden koncentrációra külön-külön a p-értéket és becsléseket, hanem a koncentráció növekedés hatására kaptam egy p-értéket és egy becslést a hatás nagyságára. Vagyis ez esetben, ha a koncentráció tízszeresére növekszik, akkor mennyivel növekszik a peteszám vagy a másik modellben a peteátmérő.

A peteszám összefüggését a koncentrációval először egyszerű lineáris modellel végeztem. A modell varianciája nagyon instabil volt, ezért nem illeszkedett jól a modell, s szignifikáns eredményt sem adott. Ezért grafikusan ellenőriztem hegedűábrákkal, hogy van-e különbség a koncentrációk szerint, illetve Wilcoxon-rang próbával ellenőriztem az eredményt. A biztonság kedvéért egy egzakt tesztet is elvégeztem, egy Wilcoxon - Mann-Whitney rang próbát is. Mivel egyik teszt sem hozott szignifikáns eredményt, ezért elvégeztem egy minta elemszám becslést, arra, hogy mekkora mintával kellett volna dolgozni, ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kapjak.

Az átmérő tesztelésénél a modellbe koncentráció és a peteszám hatását teszteltük, de mivel egy Petri csészéből 10 petét mértem le, ezért felmerül az, hogy az adatok nem függetlenek. Ennek kiküszöbölésére kevert modellt használtam fix és random hatásokkal. Az egyedek azonosítóját használtam random hatásnak, mert ez mutatja meg, hogy azonos Petri csészéből származnak a peték. A random hatás modell megmondja, hogy a különböző forrásokból mennyi variancia származik. A modell kiszámolja a standard deviáció, a random hatást adó csoporton belül és a teljes mintában. Amennyiben a két deviáció nem tér el jelentősen, akkor az adatok függetlenek tekinthetők.

Ellenőriztem, hogy a peteátmérők aránya függ-e a kísérletben használt koncentrációktól. vagy csak a peteátmérőtől függ. Tudjuk, hogy ha fejlettebb az embrió, kevésbé gömb alakú a pete (HOPKIN 1997), így ettől mindenképpen függ. Ezt mivel szintén az átmérőből generált eredmény szintén random hatás modellel elemeztem, kipróbálva, hogy az átmérőt és a koncentrációt is beleteszem a modellbe, vagy csak a koncentrációt. Ezzel megkaphatjuk, hogy van-e valamilyen torzító hatása a szernek.

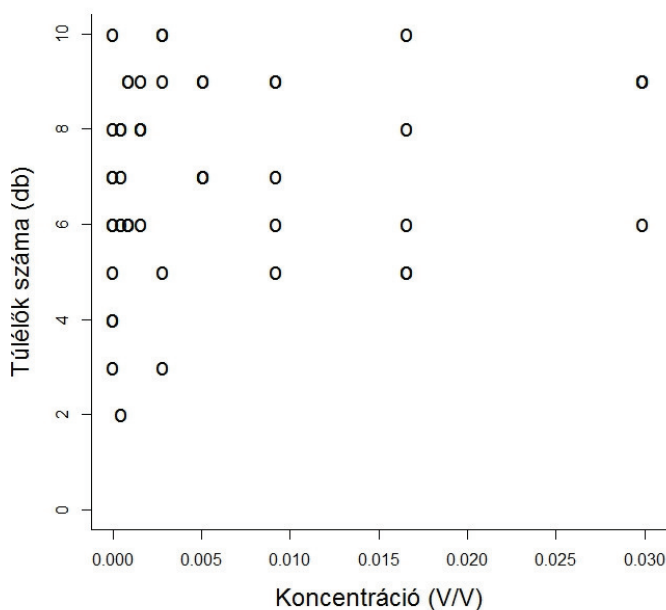
Az első generációnál megvizsgáltam, hogy van-e különbség a peteszámokban és az átmérőben azon csoportok között, amelyeknek csak a szülők kaptak kezelést, de az utódok nem, s amelyekben a szülők és az utódok is kaptak kezelést. Mivel $p < 0,00001$ volt mindkét esetben, ezért egyértelmű volt, hogy más a trend a két kezelés típus mellett. Következés képen külön elemeztem a két típust, a már az első generáción leírt módon.

3. Eredmények

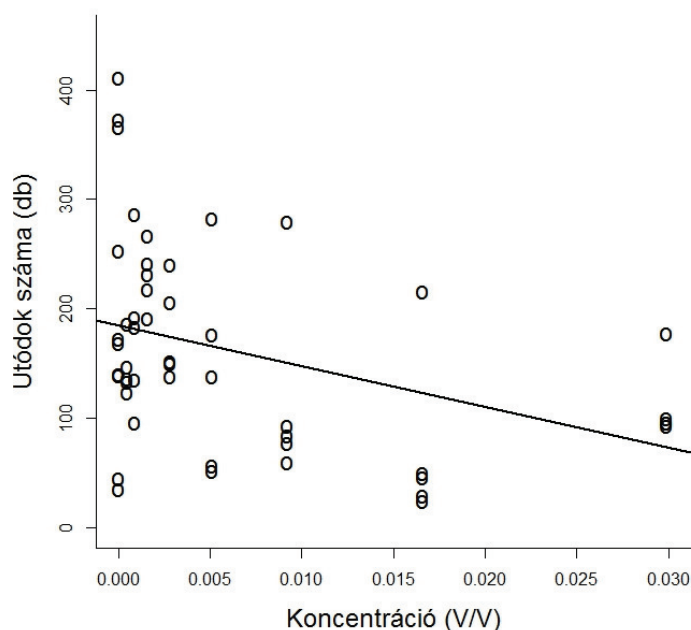
Dózis-hatás kísérlet

A mortalitás nem függ a koncentrációtól, $p=0,113$ (5. ábra). Az utód szám viszont erős koncentrációfüggést mutatott, $p=0,007$ (6. ábra). Emiatt választottunk a továbbiakban a reprodukciós sikert vizsgáló kísérleteket.

5. ábra: OECD teszt mortalitás, $p=0,113$



6. ábra: OECD teszt, utódok száma, $p=0,007$



A táplálékválasztás eredményei

Az előkísérletben az állatok a kukoricát preferálták ($p=0,006$). A szülő generációban a kontroll a kukoricát preferálta ($p<0,0001$), a tizedesre hígított koncentrációval kezelték nem válogattak ($p=0,060$), a szántóföldi koncentrációval kezelték nem válogattak ($p=0,638$), a tízszeres töménységű koncentrációval kezelték az élesztőt preferálták ($p=0,033$).

Az első generációban végeztem egy előkísérletet a tizedesre hígított koncentrációval kezelték egyedek kezeletlen utódaival, melyek nem válogattak a két táplálék között ($p=0,567$). Az első generációban a nem kezelt utódok közül a tizedesre hígított koncentrációval kezelték utócai az élesztőt preferálták ($p=0,003$), a szántóföldi koncentrációval kezelték utócai az élesztőt preferálták ($p<0,0001$), míg a tízszeres töménységű koncentrációval kezelték utócai az élesztőt preferálták ($p<0,0001$), még a kontroll is az élesztőt preferálta ($p=0,002$). Ez nagymértékben eltért a szülőknél és az előkísérletekben tapasztaltaktól, így a sorozatot megismételtük.

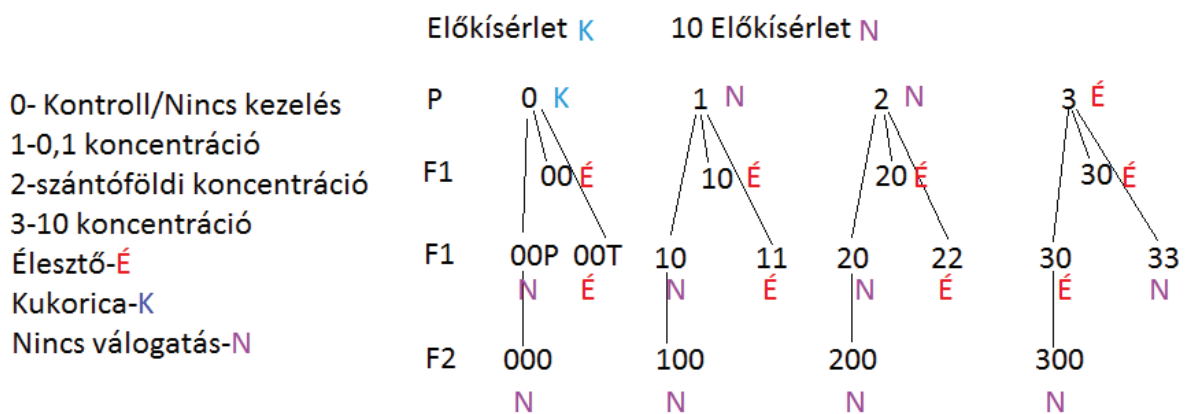
A megismételt első generációs kísérlet sorozatban a kontroll, melyet Petri csészében neveltünk nem válogatott ($p=0,707$), a tizedesre hígított koncentrációval kezelték utócai nem válogattak ($p=0,258$), a szántóföldi koncentrációval kezelték utócai nem válogattak ($p=0,261$), míg a tízszeres töménységű koncentrációval kezelték utócai az élesztőt preferálták ($p=0,0004$).

Az első generációnak a kezelt csoportjai közül a tizedesre hígított koncentrációval kezelték utódai az élesztőt preferálták ($p=0,003$), a szántóföldi koncentrációval kezelték utódai az élesztőt preferálták ($p=0,003$), a kontroll csoport, melyet mesterséges talajon tartottam, nem válogatott a két táplálék között ($p=0,707$). A tízszeres töménységű koncentrációval kezelték csoport egyedei nem válogattak ($p=0,185$). A kísérletbe vont egyedek közül sajnos több elpusztult, így a minta elemszám 14-re csökkent, majdnem az eredetileg beállított létszám (25 egyed) felére. Ezért ennek a kísérletnek az eredményét fenntartással kell kezelni.

A második generáció kontrolljai nem válogattak ($p=0,529$), míg a tizedesre hígított koncentrációval kezelték unokái nem válogattak ($p=0,231$), a szántóföldi koncentrációval kezelték unokái nem válogattak ($p=0,988$), a tízszeres töménységű koncentrációval kezelték unokái sem válogattak ($p=0,8589$). A táplálékválasztások összefoglalója a 7. ábrán található.

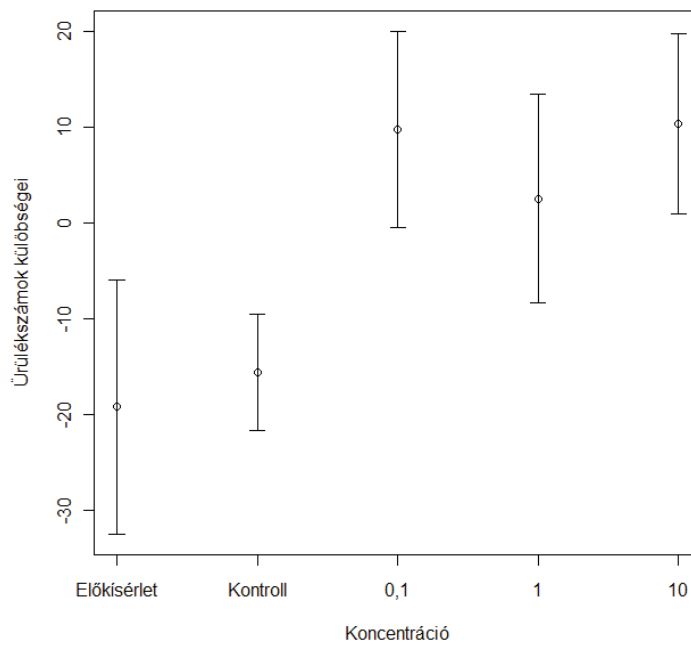
7. ábra: P- szülő generáció, F1- első generáció, F2- második generáció

Táplálékválasztás összefoglaló



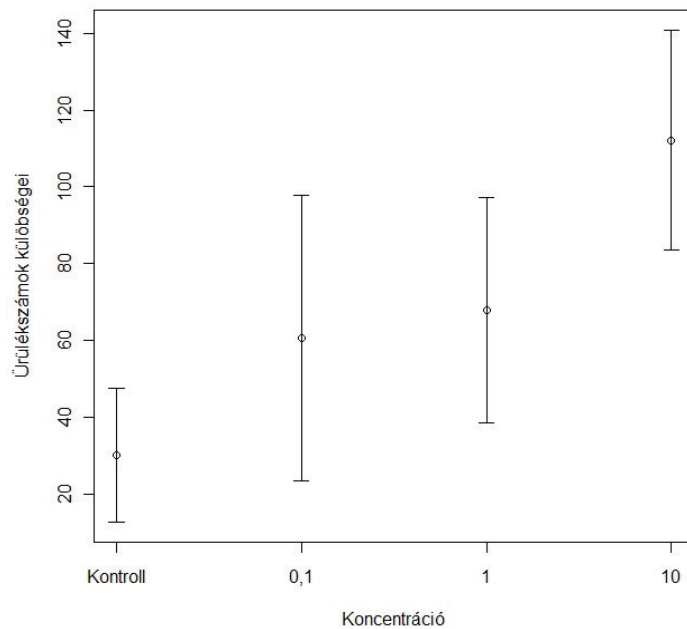
A táplálékválasztási tesztek elemzéséből nyert 95%-os konfidencia intervallumokból kiderül, hogy a két táplálék körül talált ürülékszám különbségek átlaga a koncentráció töményedése szerint toódik el (8-11. ábra) a pozitív tartományba, vagyis az élesztő preferencia irányába. A negatív tartomány a kukorica preferenciája.

8. ábra



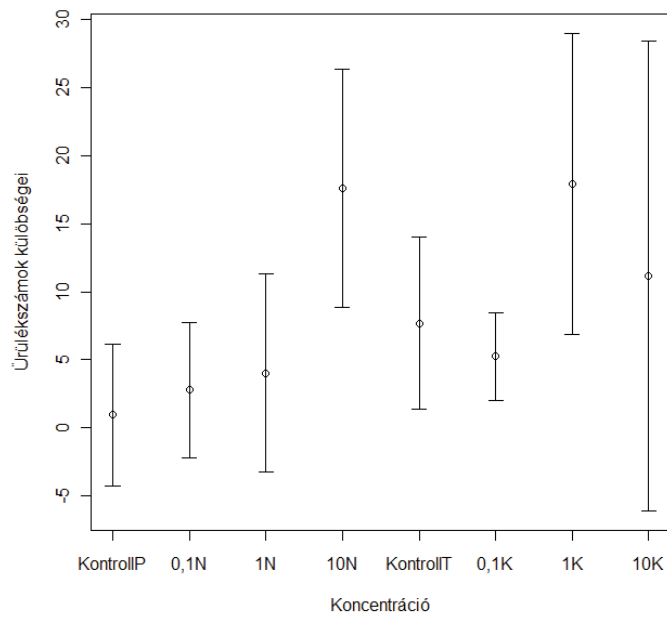
A szülő generációs táplálékválasztási kísérlet átlagai és 95%-os konfidencia intervallumai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták.

9. ábra



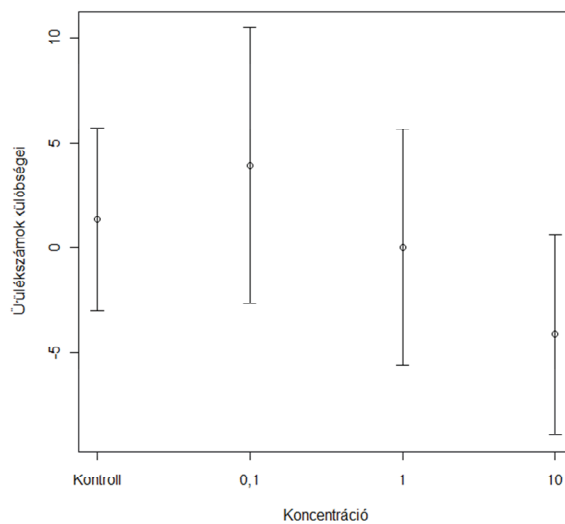
Az először elvégzett első generációs táplálékválasztási kísérlet átlagai és 95%-os konfidencia intervallumai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták

10. ábra



A megismételt első táplálékválasztási generációs kísérlet átlagai és 95%-os konfidencia intervallumai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták. (N- Nem kapott kezelést, K- Kapott kezelést, P- Petri csészében tartott, T- Talajon tartott)

11. ábra

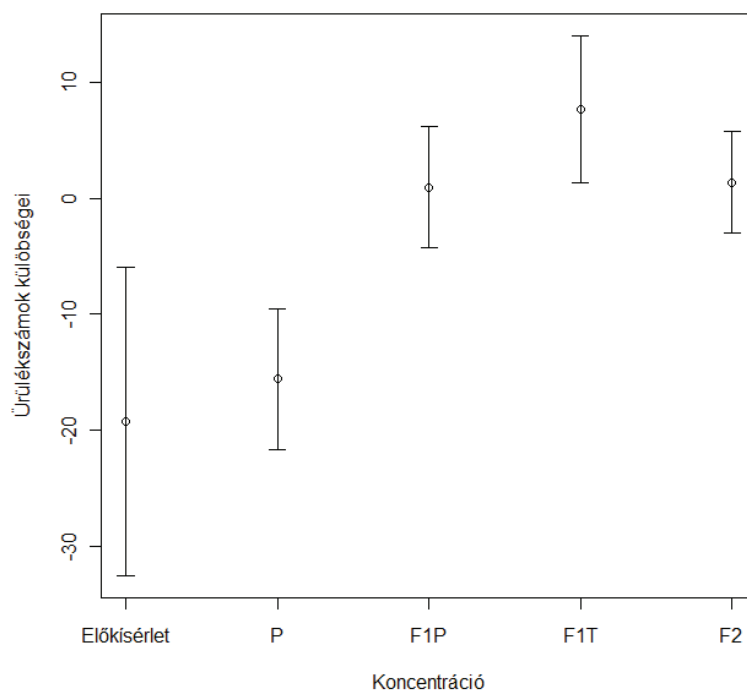


A második generációs táplálékválasztási kísérlet átlagai és 95%-os konfidencia intervallumai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták.

Ha koncentrációkon belül nézzük az egyes koncentrációk konfidencia intervallumait, akkor kiderül, hogy a kontroll preferenciája elégé változékony (12. ábra). A 13. ábrán láthatjuk,

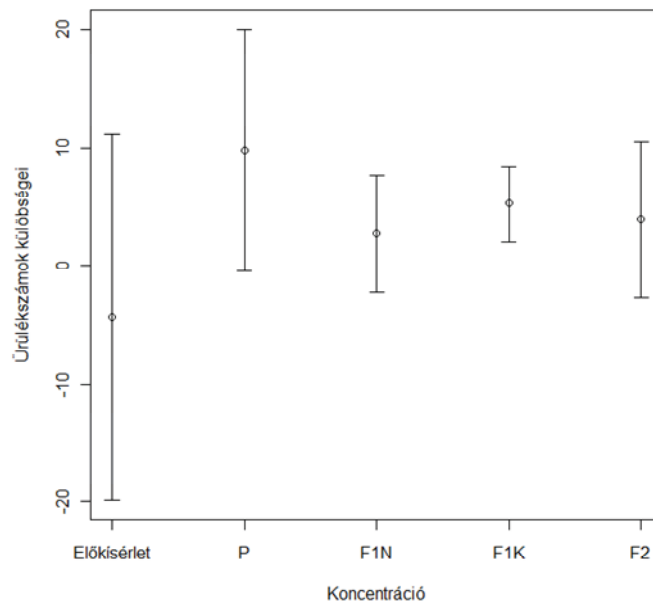
hogy a hígabb koncentrációval kezelt csoportok a 0 körül ingadoznak, vagyis nem válogatnak. A 14. ábrán a szántóföldi koncentráció intervallumai már jobban a pozitív tartományba esik. Az első generáció kezelt csoportja már egyértelműen a pozitív tartományba esik. A 15. ábrán a tízszeres töménységű koncentrációval kezelték táplálékválasztási eredményei láthatók. A szülő generáció értékeihez képest az első generációs utódok intervalluma jobbra tolódott. Az első generációs kezelt csoporton látszik, hogy a lecsökkent minta elemszám miatt a konfidencia intervallum kiszélesedett. A 11. ábrán láthatjuk, hogy a második generációnál az intervallumok visszatolódnak a 0 köré.

12. ábra



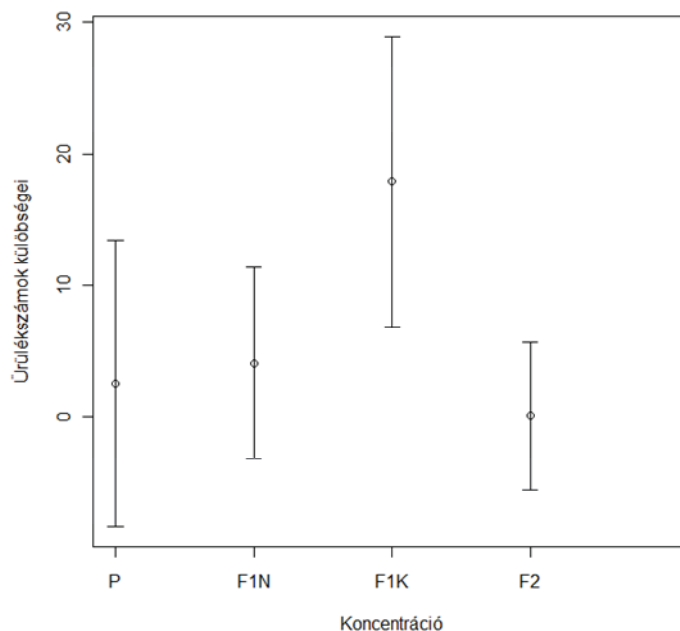
A táplálékválasztási kísérlet kontroll csoportjai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták. P- szülő generáció, F1P-első generáció, Petri csészében tartott, F1T- első generáció talajon tartott, F2- második generáció

13. ábra



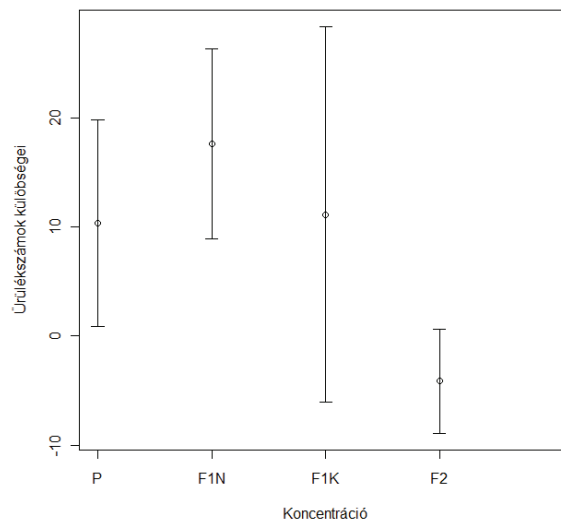
A táplálékválasztás leghígabb koncentrációjával kezelt csoportjai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták. P- szülő generáció, F1N- első generáció, nem kapott kezelést, F1K- első generáció, kapott kezelést, F2- második generáció

14. ábra



A táplálékválasztás szántóföldi koncentrációjával kezelt csoportjai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták. P- szülő generáció, F1N- első generáció, nem kapott kezelést, F1K- első generáció, kapott kezelést, F2- második generáció

15. ábra



A táplálékválasztás legterményesebb koncentrációjával kezelt csoportjai. A teljesen a negatív tartományban lévő intervallumok a kukoricát preferálták, a pozitív tartományban lévők az élesztőt preferálták. P- szülő generáció, F1N- első generáció, nem kapott kezelést, F1K- első generáció, kapott kezelést, F2- második generáció

A reprodukciós kísérlet eredményei:

A szülő generáció pete átmérő, peteszám adatainak általános statisztikai összefoglalója az 3. táblázatban látható, az utolsó oszlopban azt láthatjuk, hogy adott koncentrációval kezelt csoportban hány pete lett lemérve, illetve, hogy összesen hány pete lett lemérve.

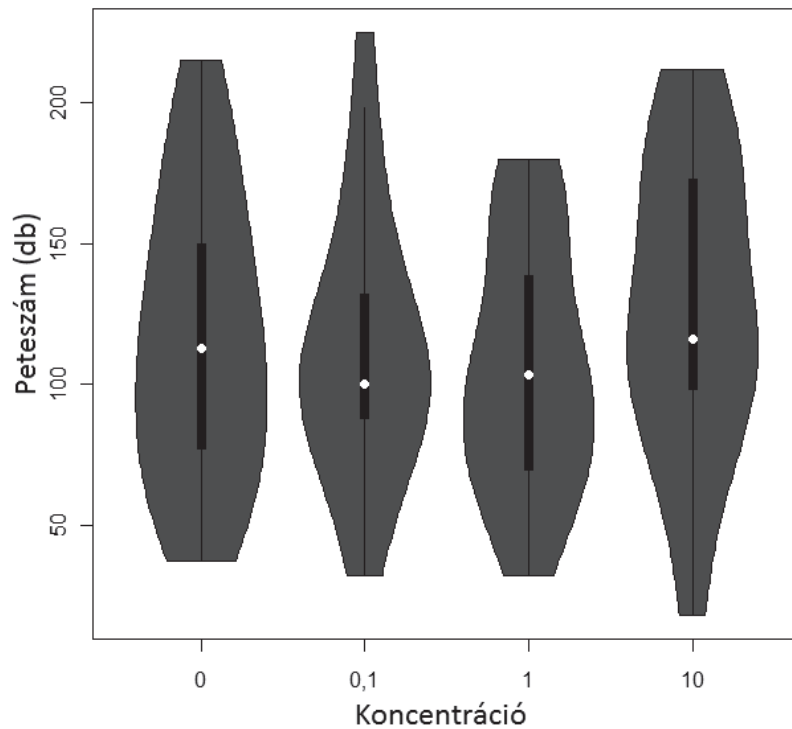
3. táblázat: a szülő generációra vonatkozó általános statisztikai adatok

	Pete átmérő1 (mm)	Pete átmérő2 (mm)	Transzformált átmérő	Peteszám (db)	Koncentráció
Minimum	0,0480	0,0540	0,05091	18	0: 250 db
Alsó kvantilis	0,1010	0,1190	0,11035	82	0,1: 190db
Medián	0,1180	0,1355	0,12618	109	1: 220 db
Átlag	0,1172	0,1358	0,12595	114.9	10: 190 db
Felső kvantilis	0,1320	0,1530	0,14143	150	Össz: 850
Maximum	0,1770	0,2330	0,20135	225	

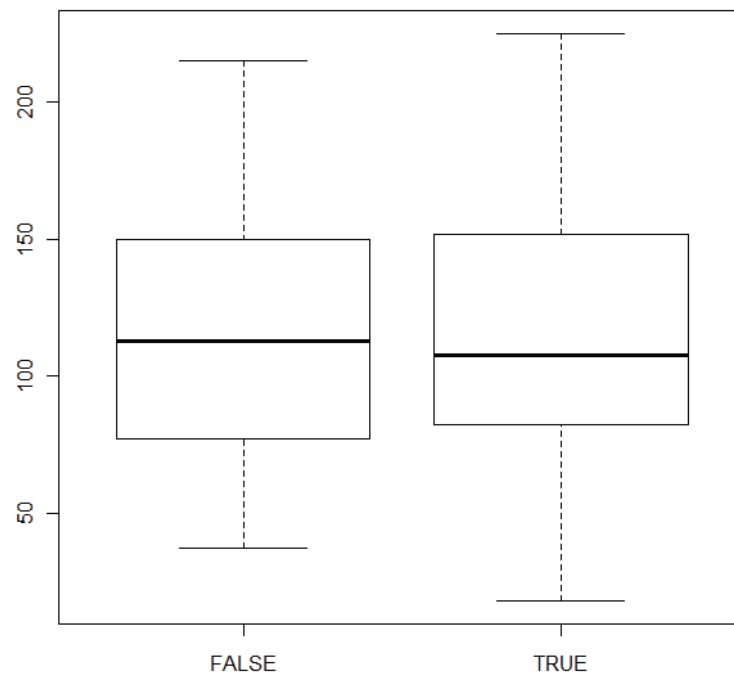
Transzformált átmérő = Pete átmérő1 és Pete átmérő2 szorzata, majd ebből gyököt vontam (ennek az a jelentése, hogy ekkora lenne az átmérő, ha a pete tökéletesen kerek lenne), a koncentrációnál a 0=kontroll csoport, 0,1=tizedesre hígított koncentrációval kezelt csoport, 1=szántóföldi koncentrációval kezelt csoport, 10=tízszeres töménységű koncentrációval kezelt csoport

A szülő generációnál a peteszámot vizsgálva a koncentráció függvényében egyszerű lineáris modellel a koncentrációnak nincs szignifikáns hatása ($p=0,287$. standard hiba=12,851). Ha a hegedűábrát néztem meg (lásd 16. ábra) az eloszlások között nem tapasztaltam nagy különbséget. A Wilcoxon rangpróba eredménye is azt mutatta, hogy nincsen hatása a koncentrációnak ($p=0,969$), és a Wilcoxon – Mann-Whitney egzakt teszt is pontosan ugyan ezt az eredményt hozta ki ($p= 0,971$). Ezt grafikusan a 17. ábrán láthatjuk, ahol a koncentrációnak van hatása (TRUE) és a koncentrációnak nincs hatása (FALSE) ábrák között nincsen különbség. A Wilcoxon teszt által megadott konfidencia intervallumok alapján, a minta elemszámnak huszonöt-ször ekkorának kellene lennie, ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kaphassak.

16. ábra: szülő generáció, peteszám a koncentráció függvényében



17. ábra: Van-e hatása a koncentrációnak a peteszámra?

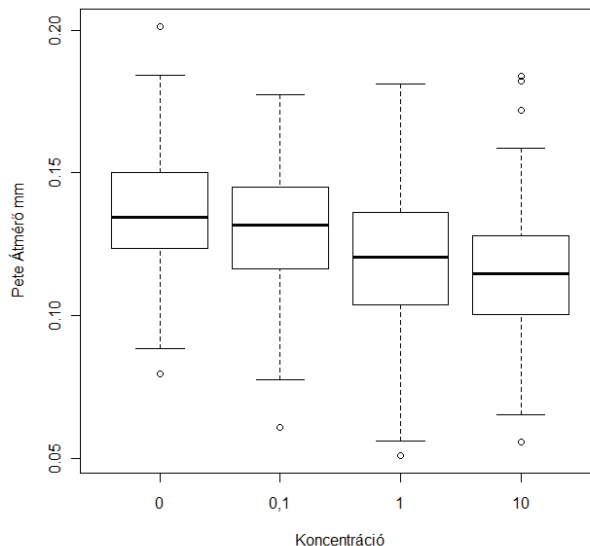


Az átmérőt vizsgálva a koncentráció és a peteszám függvényében egy interakció nélküli modellt választottam, mivel az interakció elfedte a hatást és még szignifikáns sem volt. A random modell jól illeszkedett, mivel a reziduális standard deviáció (0,018) nem tért el jelentősen a standard deviációtól (0,011). A koncentráció hatása szignifikáns volt ($p < 0,0001$,

standard hiba= 0,003). A peteszám hatása is szignifikáns volt ($p=0,006$, standard hiba= 0,00003).

Ha a Trebon koncentrációt növekszik, az átmérő csökken (lásd 18. ábra)

18. ábra: szülő generáció, pete átmérő a koncentráció függvényében, $p<0,0001$



Az átmérők arányát kétféle random modellel ellenőriztem. Amikor a koncentrációt és az átmérőt is a modellbe illeszttem, az átmérő hatása nagyon erősen szignifikáns volt ($p<0,0001$), míg a koncentráció egyáltalán nem ($p=0,558$). A modellben a reziduális standard deviancia (0,096) és a standard deviancia (0,014) nem különbözött jelentősen. Ha viszont a modellbe csak a koncentrációt illeszttem, akkor szignifikáns volt a koncentráció hatása ($p=0,036$). Itt sem tért el jelentősen a két deviancia (reziduális standard deviancia: 0,097 és standard deviancia: 0,017).

Az első generáció pete átmérő, peteszám adatainak általános statisztikai összefoglalója a 4. és 5. táblázatban látható, az utolsó oszlopokban azt láthatjuk, hogy adott koncentrációval kezelt csoportban hány pete lett lemérve, illetve, hogy összesen hány pete lett lemérve.

Az első generációnál a peteszámot vizsgálva azon egyedeken, amelyeknek csak a szülei voltak kezelve a koncentráció függvényében lineáris modellel vizsgálva nem volt szignifikáns hatás ($p=0,632$, standard hiba=14,651). Amennyiben a hegedűábrát (19. ábra) vizsgáltam meg ott sem találtam különbséget a különböző koncentrációk eloszlása között. A Wilcoxon rangpróba eredménye is azt mutatta, hogy nincsen hatása a koncentrációnak ($p=0,218$), és a Wilcoxon – Mann-Whitney egzakt teszt is ugyan ezt az eredményt hozta ki ($p= 0,220$). Ezt grafikusán a 20. ábrán láthatjuk, ahol a koncentrációnak van hatása (TRUE) és a koncentrációnak nincs hatása (FALSE) ábrák között nincsen különbség. Az ezek által

megadott konfidencia intervallumok alapján, a minta elemszámnak huszonötször ekkorának kellene lennie, ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kaphassak.

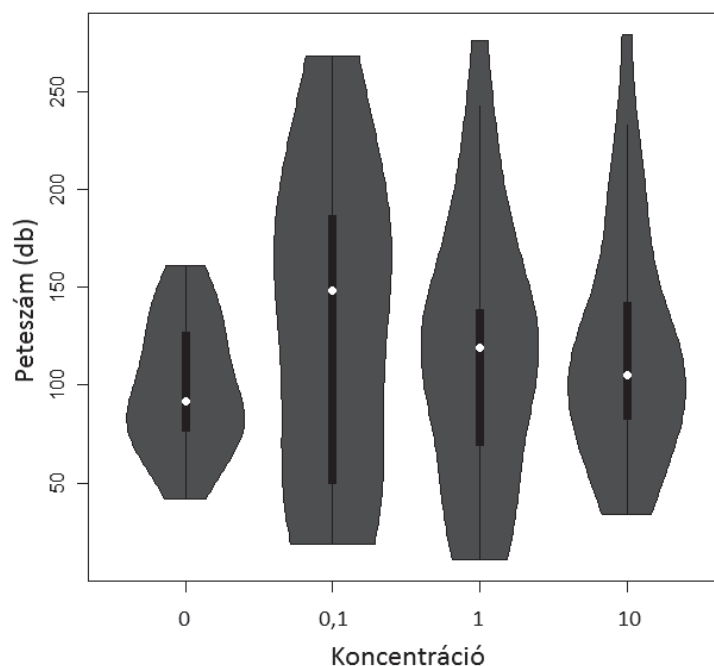
4. táblázat: az első generációnak azon csoportjának általános statisztikai adatai, melyben csak a szülők kaptak kezelést az utódok nem.

	Pete átmérő1 (mm)	Pete átmérő2 (mm)	Transzformált átmérő	Peteszám (db)	Koncentráció
Minimum	0,053	0,071	0,068	11	0: 240 db
Alsó kvantilis	0,113	0,137	0,125	72,75	0,1: 140db
Medián	0,130	0,156	0,142	107	1: 270 db
Átlag	0,131	0,157	0,143	114,12	10: 270 db
Felső kvantilis	0,148	0,176	0,160	143,25	Össz: 920
Maximum	0,211	0,264	0,216	279	

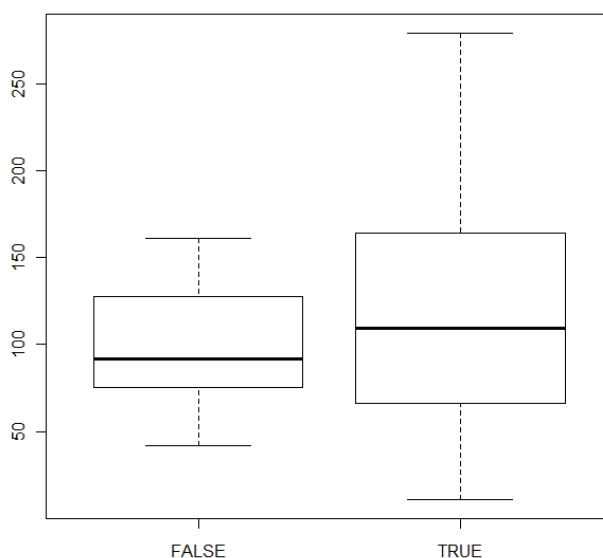
5. táblázat: az első generációnak azon csoportjának általános statisztikai adatai, melyben a szülők és az utódaik is kaptak kezelést.

	Pete átmérő1 (mm)	Pete átmérő2 (mm)	Transzformált átmérő	Peteszám (db)	Koncentráció
Minimum	0,049	0,064	0,060	16	0: 240 db
Alsó kvantilis	0,093	0,114	0,104	105	0,1: 260db
Medián	0,107	0,131	0,119	160	1: 260 db
Átlag	0,109	0,133	0,120	168,1	10: 230 db
Felső kvantilis	0,124	0,150	0,135	228	Össz: 990
Maximum	0,202	0,278	0,237	320	

19. ábra: első generáció, csak a szülők lettek kezelve, peteszám a koncentráció függvényében



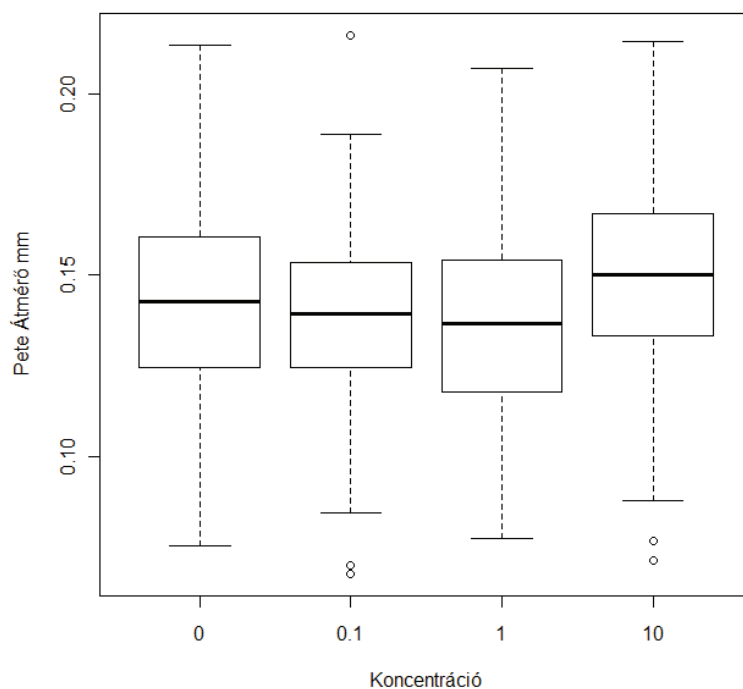
20. ábra: első generáció, csak a szülők lettek kezelve: vajon van-e hatása a koncentrációnak az átmérőre?



Az átmérőt vizsgálva a koncentráció és a peteszám függvényében a random modell jól illeszkedett, mivel a reziduális standard deviáció (0,012) nem tért el jelentősen a standard deviációtól (0,022). A koncentráció hatása szignifikáns volt ($p=0,0031$, standard hiba= 0,003). A peteszám hatása is szignifikáns volt ($p=0,003$, standard hiba= 0,00002).

Ha a Trebon koncentrációt növekszik, az átmérő is növekszik (lásd 21. ábra), ha a peteszám nő, akkor csökken az átmérő.

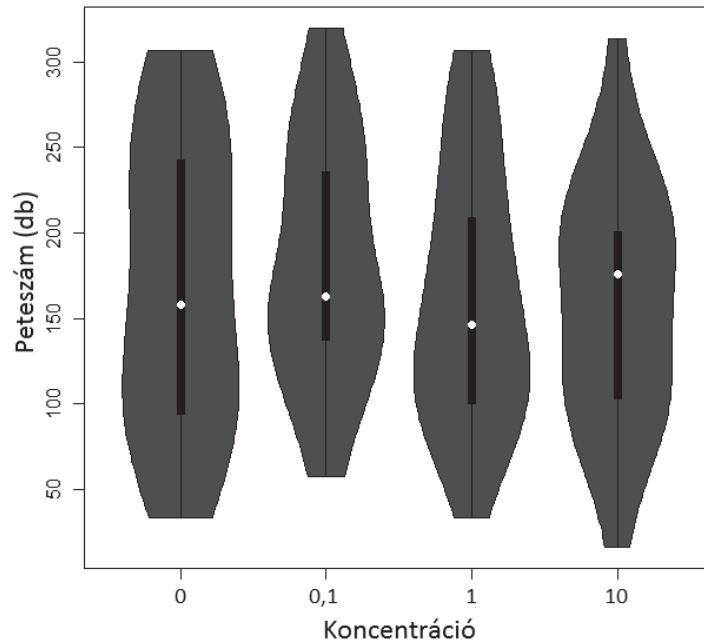
21. ábra: első generáció, csak a szülők lettek kezelve, pete átmérő a koncentráció függvényében



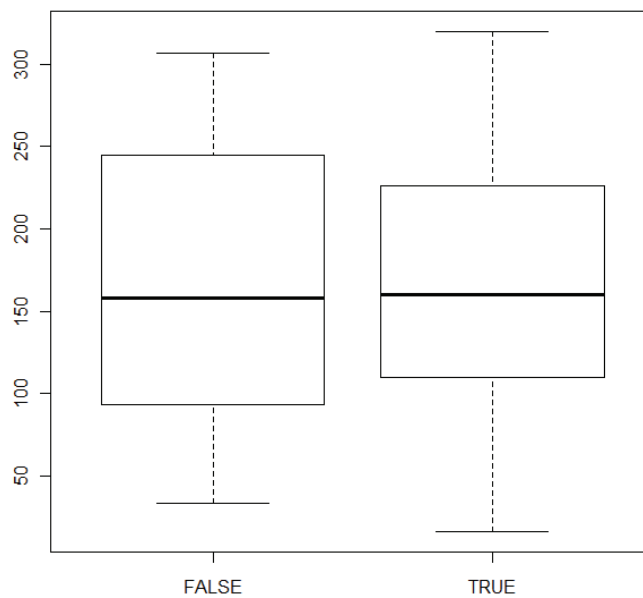
Az átmérők arányát kétféle random modellel ellenőriztem. Amikor a koncentrációt és az átmérőt is a modellbe illesztettem, az átmérő hatása nagyon erősen szignifikáns volt ($p=0,0001$, standard hiba= $0,144$), míg a koncentráció egyáltalán nem ($p=0,430$, standard hiba= $0,009$). A modellben a reziduális standard deviancia $0,00001$ és a standard deviancia $0,11$. Ha viszont a modellbe csak a koncentrációt illesztettem, akkor sem volt a koncentrációnak hatása ($p=0,872$, standard hiba= $0,009$). A reziduális standard deviancia: $0,000007$ és standard deviancia: $0,111$.

Az első generációnál a peteszámot vizsgálva azon egyedeken, amelyeknek a szüleik és maguk is kezelve voltak a koncentráció függvényében, lineáris modellel vizsgálva nem volt szignifikáns hatás ($p=0,378$, standard hiba= $18,473$). Amennyiben a hegedűábrát (22. ábra) vizsgáltam meg ott sem találtam különbséget a különböző koncentrációk eloszlása között. A Wilcoxon rangpróba eredménye is azt mutatta, hogy nincsen hatása a koncentrációnak ($p=0,961$), és a Wilcoxon – Mann-Whitney egzakt teszt is ugyan ezt az eredményt hozta ki ($p=0,963$). Ezt grafikusán a 23. ábrán láthatjuk, ahol a koncentrációnak van hatása (TRUE) és a koncentrációnak nincs hatása (FALSE) ábrák között nincsen különbség. Az ezek által megadott konfidencia intervallumok alapján, a minta elemszámnak hatvannégyszer ekkorának kellene lennie, ahhoz, hogy a kérdésre egyértelmű választ kaphassak.

22. ábra: generáció, a szülők és az utódok is kezelve lettek, peteszám a koncentráció függvényében



23. ábra: első generáció, a szülők és az utódok is kezelve lettek, vajon van-e hatása a koncentrációnak a peteszámra?



Az átmérőt vizsgálva a koncentráció és a peteszám függvényében a random modell jól illeszkedett, mivel a reziduális standard deviáció (0,010) nem tért el jelentősen a standard deviációtól (0,022). A koncentráció hatása szignifikáns volt ($p < 0,0001$, standard hiba= 0,003). A peteszám hatása is szignifikáns volt ($p = 0,014$, standard hiba= 0,00002).

Ha a Trebon koncentráció növekszik, az átmérő növekszik (lásd 20. ábra), míg ha a peteszám nő akkor az átmérő csökken.

Az átmérők arányát kétféle random modellel ellenőriztem. Amikor a koncentrációt és az átmérőt is a modellbe illesztettem, az átmérő hatása nagyon erősen szignifikáns volt ($p < 0,0001$, standard hiba=0,159), és a koncentráció is az volt ($p = 0,187$, standard hiba=0,010). A modellben a reziduális standard deviancia 0,014 és a standard deviancia 0,118. Ha viszont a modellbe csak a koncentrációt illesztettem, akkor nem volt szignifikáns a hatás ($p = 0,12$, standard hiba=0,010). A reziduális standard deviancia: 0,008 és standard deviancia: 0,120.

4. Diskusszió:

Dózis-hatás kísérlet:

A mortalitás nem függött a koncentrációtól, az utódok száma viszont mutatott koncentrációfüggést. Ez lehetséges eredmény, mivel az élettani jellegek érzékenyebb paraméterek, mint a mortalitás (CROUAU ET AL. 1999), s más kutatásokban is megjelent már ez az eredmény (SAN MIGUEL ET AL., 2008). S emiatt az eredmény miatt választottam a további vizsgálatokra a reprodukciós jellegeket.

Táplálékválasztási kísérlet:

A szülő generációban tapasztaltak alapján és az előkísérletek eredményei alapján azt feltételeztem, hogy a kontroll csoportok azért fogyasztanak több kukorica levelet, mivel a monoton élesztőn tartás után, valamilyen olyan tápanyagot próbálnak nagyobb mennyiségben felvenni, amiben a kukorica levél gazdagabb. Ám a megismételt első generációs kísérletben a kontroll csoportok már olyan változatosságot mutatnak, mely alapján ez az elmélet nem állja meg a helyét.

Az első generációban meg kellett ismételni egy kísérletet, mivel az előzőektől nagyon eltérő eredmény jött ki (lásd 9. ábra, Eredmények), mind az elfogyasztott élesztő mennyiségében, mind pedig a konfidencia intervallumok szélességében. Az ábrán jól megfigyelhető ugyan az a koncentrációk szerinti trend, mint a többi kísérletnél, csak a konfidencia intervallumok jelentősen eltolódtak jobbra, a pozitív tartományba. Mivel a kontroll is erős élesztő preferenciát mutatott, és az előbb említett koncentrációk szerinti trend is megmaradt, ezért arra a következtetésre jutottam, hogy valószínűleg valamilyen extra szennyeződés okozhatta, ezt az eredményt.

A megismételt elsőgenerációs kísérletben azok az egyedek, melyek kezelve lettek valamilyen koncentrációval és a szüleik is kezelve voltak, azok az élesztőt preferálták (kivétel képez az a csoport, ahol lecsökkent a minta elemszám). Míg azok a csoportok, melyeknek csak a szüleik lettek kezelve ők maguk nem, azok nem válogattak a két élelem között, csak a legtöményebb koncentrációval kezeltek választották egyértelműen az élesztőt. A kontroll csoportokon megfigyelhető, hogy a talajon nevelt jobban preferálja az élesztőt, mint a Petri csészében nevelt. Ez nem olyan meglepő, mivel a mesterséges talaj nem olyan stabil és egyenletes környezet, mint a Petri csésze.

Ez alapján a két generáció alapján azt a következtetést vontam le, hogy valószínűleg a növényvédő szerrel kezelt állatoknak jobban szüksége van a jobb minőségű táplálékra, az élesztőre (Nem publikált adatok.), mint a kontroll csoportoknak.

A második generációnál arra voltam kíváncsi, hogy vajon ha a szülőket kezelem és az utána következő két generáció nem kap kezelést, az elég idő-e ahhoz, hogy elmúljanak a szer hatásai. Mivel a konfidencia intervallumok beszűkültek és a nulla köré rendeződtek, ezen túl a t-teszt is azt hozta ki eredményül, hogy nincs válogatás, ezért a válasz a feltett kérdésre igen, két generáció már elég ahhoz, hogy a Trebon hatása semlegesítődjön. Egy generáció azonban, ahogy a fentebb leírt eredmények mutatják, nem elég.

A reprodukciós kísérlet:

Egyetlen generációban sem sikerült kimutatni, hogy akármelyik koncentráció hatással lenne a peteszámra. A tény, hogy huszonötszörös, illetve hatvannégyszeres minta elemszámokra lett volna szükség, az egyértelmű eredmények megkapásához, azt mutatja, hogy ennek a kérdésnek a megválaszolásához egy sokkal nagyobb vizsgálat szükséges, mely meghaladja egy diplomamunka kereteit.

A szülő generációban az átmérő csökken a koncentráció hatására. Ez egy tipikus reakciónak nevezhető, mivel rossz körülmények között a *F. candida* egyedek a túlélésbe többet fektetnek és kevesebbet a reprodukcióba, vagyis az utódokba (BUR ET AL., 2010).

De ha figyelembe vesszük azt, hogy az első generációban a Trebon koncentráció növekedésével az átmérő is nőtt, akkor felmerül az a hipotézis, hogy a *F. candida* képes valamilyen módon az utódoknak információt átadni a környezetről és ehhez igazodik az egyedek stratégiája (TULLY- FERRIERE, 2008). Ez a stratégia flexibilis, így akár egy egyed is képes lehet két szaporodás között megváltoztatni, mint ahogy arra sok példa van az irodalomban, mint gerinces (REZNICK-YANG, 1993., BASHEY, 2006, KONTIANINENN

ET AL.,2008), mint gerinctelen esetekben (GLIWICZ-GUISANDE, 1992, FOX ET AL., 1997, FISCHER ET AL., 2006, ALLEN ET AL., 2008). Másik hipotézisként felvetődhet, hogy az első generációs eredmények már a rezisztencia kialakulása felé mutatnak. Ez összhangba hozható, a már említett cikkekkel, melyekben nehézfémekkel szemben tolerancia alakul ki. LANGDON ET AL. (2009) egy földigiliszta fajt vizsgáltak arzénnel szennyezett taljban, illetve STERENBORG-ROELOFS, (2003) az *Orchesella cincta* ugróvillás fajt vizsgálta kadmium szennyezés mellett. Mindkét esetben kialakult egy tolerancia.

Az átmérők arányára a szülő generációban a koncentrációnak volt hatása, míg az első generációban nem. Illetve azon csoportban, amikor a szülők és az utódok is kezelve lettek, és a modellben az átmérő és a koncentráció is szerepelt, a koncentrációnak szignifikáns hatása volt. Ám mivel a szűkebb modell ennek ellenkezőjét állította, ezért úgy korrekt, ha nem utasítjuk el a statisztikai null hipotézist ez alapján, vagyis hogy nincsen hatása a koncentrációnak az arányra.. Ezek az adatok inkább a rezisztencia hipotézist támasztják alá.

Amennyiben még is elfogadjuk, hogy a Trebonnak van hatása az első generáció kezelt egyedekének átmérő arányára, akkor is elfogadható, az eredmény, hiszen ez egy sokkal erősebben terhelt csoport, így nem olyan gyors a rezisztencia kialakulása.

Összefoglalva, ebben a vizsgálatban is kimutatható volt több-generációs hatás a reprodukciós paramétereken, mint HAFER ET AL. (2011) és CAMPICHE ET AL. (2007) vizsgálatában. Ha jobban megfigyeljük Campiche eredményét, ahol a methopren EC50 értéke F0 generációban 162mg/kg volt, az F1 generációban 191 mg/kg, látható, hogy hasonló az én vizsgálatom eredményéhez annyiban, hogy az első generációban, már némi rezisztencia kialakulása látható. Illetve a táplálékválasztási kísérlet is bizonyítani látszik, hogy az utódok valamilyen módon információt kapnak a szülőktől a környezetükről.

További feladatok.

A reprodukción és a táplálékválasztáson túl még lehetne vizsgálni, hogy a Trebon 10 F-nek van-e valamilyen hatása a növekedésre, mivel a reprodukció csak egy kicsivel érzékenyebb paraméter a növekedésnél (CROUAU-MOIA, 2006). Például a növekedési görbe maximuma egybe esik-e a kontroll csoporttal, vagy nem? Vagy van e különbség azon időpontban, hogy mikor éri el a növekedési görbe a maximumát a kontroll csoport és a kezelt csoportok között?

Ezen kívül még fontos lehet megvizsgálni, hogy a *F. candida* rendelkezik-e valamilyen elkerülési viselkedéssel, mivel ez csökkentheti az állat kitettségét a növényvédő szernek. Például elkerüli-e a szennyezett területet, esetleg csak a szennyezett táplálékot?

Ezen túl érdemes lehet megvizsgálni, hogy ha egy egyed nem csak egy alkalommal kezelek, akkor, hogyan változik a mortalitás, a reprodukciós paraméterek, a növekedés.

Végezetül fontos lenne a másik szabad földön használt, gabonaféléken alkalmazott koncentrációval (2,85 ml szer/l víz) is elvégezni ezeket a kísérleteket.

5. Összefoglaló:

A növényvédő szerek elterjedése óta fontossá vált azok mellékhatásainak vizsgálata, illetve a nem célfajokra gyakorolt hatásuk vizsgálata. Az én vizsgálatom a Trebon 10 F nevű inszekticid hatásait vizsgálja a *Folsomia candida* Willem (Collembola) fajon. A vizsgálat azért fontos, mivel az ugróvilások fontos szerepet töltenek be a talaj anyagforgalmában. Megvizsgáltam, hogy a szer hatással van-e az *F. candida* mortalitására, reprodukciós képességeire (peteszám, pete átmérő, pete átmérők aránya), illetve a táplálékválasztására.

A mortalitást egy generáción, a reprodukciós képességet két generáción, a táplálékválasztást pedig három generáción vizsgáltam.

A mortalitást standard OECD teszttel vizsgáltam. A Trebonnak nem volt szignifikáns dózisfüggő hatása a mortalitásra, de a juvenilisek száma csökkent a koncentráció növekedésével. Ezért reprodukciós kísérletekkel dolgoztam tovább. A Trebon egyik kiszórási koncentrációjának, annak tizedének és tízszeresének hatását vizsgáltam, illetve egy kontroll csoportot is alkalmaztam, mind a reprodukciós, mint a táplálékválasztási teszteknel. Az első generációnál az utódokat kettéosztottam egy kezelt és nem kezelt csoportra és rajtuk is elvégeztem a tesztek. A táplálékválasztási tesztet még a nem kezelt utódain is elvégeztem.

A táplálékválasztási kísérleteknél élesztőt (a normál táplálék) és Zamora kukorica levéldarálékot kínáltam fel. Egy edényben egy állat volt 1 hétig. Azt számoltam meg, hogy adott táplálék köré mennyi ürülék kerül. Az adatokat páros t-próbával elemeztem, kétoldali hipotézis vizsgálattal. Ezekből nyert konfidencia intervallum a két táplálék körül található ürülékszám különbségére vonatkozik. Ezt ábrázolva látható volt, hogy az élesztőt preferáló csoportok a pozitív tartományba estek, illetve hogy a koncentráció növekedésével egyre inkább a pozitív tartomány felé tolódnak el a csoportok. Az élesztőt a legtöményebb koncentrációval kezelt csoportok, illetve az első generációban a kezelt csoportok preferálták, a többi kezelést kapott csoport nem válogatott. Néhány kontroll csoport a kukoricát preferálta. Ez azért lehet, mert valószínűleg a Trebonnal jobban terhelt állatoknak nagyobb szüksége van a jobb minőségű táplálékra. A második generációban a konfidencia intervallumok beszűkültek

és a nulla köré gyűltek, vagyis egyik csoport sem válogatott. Ez azt a feltételezést erősíti, hogy a Trebon hatásának eltűnéséhez két generáció már elég.

A reprodukciós kísérleteknél a peteszámra egyik koncentráció sem volt hatással, egyik generációban sem. A pete átmérő a szülő generációban csökkent, az első generációban viszont nőtt a koncentráció növekedésével. Az átmérők arányára a szülő generációban volt hatása a Trebonnak, de az első generációban nem. Ezek az eredmények felvetik azt, a hipotézist, hogy a szülő generáció csökkenti a befektetését az utódokba rossz a körülmények között, illetve, hogy az *F. candida* képes valamilyen módon információt szolgáltatni az utódoknak a környezetről, így képesek ahhoz alkalmazkodni. Felvetődik még az a hipotézis is, hogy az első generáción egy kezdeti rezisztencia jelei mutatkoznak.

Összefoglalva, ez a vizsgálat kimutatta, hogy a Trebon hatással van a *F. candida* reprodukciójára és táplálékválasztására, mely több generáción is átívelő hatás.

6. English Summary: The effects of Trebon 10 F on the reproduction and food choice of the *Folsomia candida* (Collembola)

Because of the world-wide distribution of the pesticides, examination of their side effects on non-target species became high priority. In my study I was interested in the effects of an insecticide, called Trebon 10 F, on the *Folsomia candida* Willem (Collembola). This kind of study is important, because springtails have significant role in integrating processes of the soils. I studied chemical effects on mortality, reproduction (egg number, egg diagonal, diagonal's ratio) and food choice of the collembolan *F. candida*.

I studied mortality on one generation, reproduction on two generations and food choice on three generations.

Mortality was examined with standard OECD test. Trebon didn't have significant concentration-dependent effect on mortality, but the number of juveniles decreased if the concentration of the chemical increased. As a consequence of this result I continued the work with reproduction tests. I used one of the field concentrations of Trebon, its tenth part and its tenfold concentration, plus one control group in the reproduction tests and in the food choice tests. In the first generation I divided the offsprings into a treated and a non-treated group and I have done the tests with both groups of animals too. The food choice test was conducted with the offsprings of the non-treated group.

In the food choice test I offered baker's yeast (normal food) and ground leaf of Zamora maize. In one pot was one animal for one week. I counted the number of the fecal pellets

around the given food type. Data were analyzed with two-sided paired t-test. Confidence intervals from the t-test was described the difference of the number of fecal pellets of the two food types. It was found that groups which prefer baker yeast are in the positive domain and if the concentration increases those groups move more positive domains. Baker yeast was preferred by groups treated with the most concentrated solution and groups from the first generation, whiches were treated, the other groups didn't preferred any food. Some controls preferred maize leaf. A possible explanation of this result is that springtails stressed more with Trebon require better quality food. In the second generation, confidence intervals became narrow and gathered around zero, so any groups made a choice. It supports the hypothesis that two generation are enough to disappear the Trebon effects.

In reproduction test, no any concentration had an effect on the number of eggs in any generation. Diagonal of the eggs decreased in parental generation, but increased in first generation, if the concentration of Trebon increased. The chemical had an effect on the ratio of egg's diagonal in parental generation, but no effect was found in the first generation. These results raise the hypothesis that parental generation decrease the investment to offsprings in harsh enviroment, and *F. candida* can give information about the enviroment to offspring in some ways. Consequently, offspirngs can adapt to it. Another hypothesis raises up that first generation show the first symphomes of resistence.

Summed up, this examination showed that Trebon has effect on reproduction and food choice of *F. candida*, which is a multigenerational effect.

7. Nyilatkozatok

NYILATKOZAT

a szakdolgozatról

Alulírott.....(név)

.....(évf., szak megnevezése)

kijelentem, hogy

.....

.....

.....

című szakdolgozatom saját kutató munkám eredménye. Hozzájárulok, hogy a szerzői jogok tiszteletben tartása mellett a SZIE Állatorvos-tudományi Könyvtárban és az egyetemi adattárban elhelyezett nyomtatott és elektronikus példányokat az érdeklődők felhasználják az alábbi feltételekkel: (Kérjük aláhúzással jelölni)

Nyomtatott másolható: részben / egészben

Elektronikus megjeleníthető: belső hálózaton / szabad hozzáféréssel, interneten

aláírás

Budapest,

TÉMAVEZETŐI NYILATKOZAT

Alulírott Dr. Bakonyi Gábor kijelentem, hogy Szabó Borbála A Trebon 10 F növényvédő szer hatásai a *Folsomia candida* (Collembola) faj reprodukciójára és táplálékválasztására című szakdolgozatának tartalmát ismerem, azzal egyetértek és védelemre javaslom.

Budapest,

.....

Aláírás

Dr. Bakonyi Gábor

Témavezető

8. Irodalomjegyzék:

- ALLEN, R. M., BUCKLEY, Y. M., MARSHALL, D. J.: Offspring size plasticity in response to intraspecific competition: An adaptive maternal effect across life-history stages. *American Naturalist*, 2008. 171. 225–237p
- CROUAU, Y., CHENON, P., GISCLARD, C.: The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) for the bioassay of xenobiotic substances and soil pollutants, *Applied Soil Ecology* 1999. 12. 103-111
- CROUAU, Y. AND MOIA, C.: The relative sensitivity of growth and reproduction in the springtail, *Folsomia candida*, exposed to xenobiotics in laboratory: An indicator of soil toxicity, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2006, 64, 115-121p
- BAKONYI G., DOLEZSAI A., MÁTRAI N. AND SZÉKÁCS A.: Effects of Consumption of Bt-maize (MON 810) on the Collembolan *Folsomia candida*, Over multiple Generations: A laboratory study, *Insects* 2011. 2. 243-252p
- BASHEY, F.: Cross-generational environmental effects and the evolution of offspring size in the Trinidadian guppy *Poecilia reticulata*, *Evolution*, 2006. 60. 348-361p
- BUR, T., PROBST, A., BIANCO, A., GANDOIS, L., CROUAU, Y.: Determining cadmium critical concentrations in natural soils by assessing *Collembola* mortality, reproduction and growth, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2010., 73, 415-422p
- DÁNYI L. ÉS TRAESER GY. 2007.: Magyarország ugróvillásai. [Springtails of Hungary] – IN FORRÓ, L. (ed.): A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása. [The origin of the fauna of the Carpathian Basin.] Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest, 21-28p
- DARVAS B., SZÉKÁCS A: Mezőgazdasági ökotoxikológia. L'Harmattan Budapest 2006. 37-43p, 75-76p, 117-139p, 143-266p
- FAO specification and evaluations for agricultural pesticides etofenprox: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/Specs/docs/Pdf/new/Etofenprox07.pdf>, Megtekintés: 2010. 12. 16.
- FISCHER, E., FARKAS, S., HORNUNG, E. AND PAST, T.: Sublethal effects of an Organophosphorus insecticide, Dimethoate, on the Isopod *Poecillio scaber* Latr., *Comparative Physiology and Biochemistry* 1997. 116C, 2 pp. 161-166p.
- FISCHER, K., BOT, A.N.M., BRAKEFIELD, P.M, ZWAAN, B.J.: Do mothers producing larger offspring have to sacrifice fecundity?, *Journal of Evolutionary Biology*, 2006. 19. 2. 380-391p

- FOLKER-HANSEN, P, KROGH, P. H AND HOLMSTRUP, M.: Effect of Dimethoate on body growth of representatives of the soil living mesofauna, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1996. 33, 207-216p
- FOUNTAIN, M. T. AND HOPKIN, S. P: Continuous monitoring of *Folsomia candida* (Insecta: Collembola) in metal exposure test, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2001. 48, 275-286p
- FOUNTAIN, M.T., HOPKIN, S.P.: *Folsomia candida* (Collembola): A “Standard” Soil Arthropod, *Annual review of Entomology* 2005. 50: 201-222p
- FOX, C.W., THAKAR, M.S., MOUSSEAU, T.A.: Egg size plasticity in a seed beetle: An adaptive maternal effect. *American Naturalist*, 1997. 149. 149–163p
- GLIWICZ, ZM, GUISANDE, C: Family planning in *Daphnia*: resistance to starvation in offspring born to mothers grown at different food levels, *Oecologia*, 1992. 91. 4. 463-464p
- GOTO, H. E.: Simple techniques for the rearing of Collembola and a note on the use of a fungistatic substance in the cultures. *Entomologists' Monthly Magazine* 1960. 96. 138-140p.
- HALFER, N, EBIL, S, ULLER, T, PIKE, N: Transgenerational effects of food availability on age at maturity and reproductive output in an asexual collembolan species. *Biology Letters*, 2011. 7. 5pp. 755-758p
- HOPKIN S.P. 1997. *Biology of Springtails (Insecta: Collembola)* Oxford UK, Oxford University Press, 4-5. 142-148p
- IMAGE J (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>), Megtekintés: 2011.08.05.
- KAFEL, A., ZAWISZA R., A., SZULINSKA, E.: Effects of multigenerational cadmium exposure of insects (*Spodoptera exigua* larvae) on anti-oxidant response in haemolymph and developmental parameters, *Environmental pollution* 2012. 162. 8-14p
- KONTIAINEN, P, BROMMER, J., E, KARELL, P, PIETIAINEN, H: Heritability, plasticity and canalization of Ural owl egg size in cyclic environment. *Journal of Evolutionary Biology*, 2008. 21. 88-96p
- LANGDON, C. J., MORGAN, A. J., M. CHARNOCK, J., SEMPLE, K. T., LOWE, C. N.: As-resistance in laboratory-reared F1, F2 and F3 generation offspring of earthworm *Lumbricus rubellus* inhabiting an As-contaminated mine soil, *Environmental pollution*, 2009. 157 11p., 3114-3119p
- MÄENPÄÄ, K., LEPPÄNEN, M. T. ÉS KUKKONEN, J. V. K.: Sublethal toxicity and biotransformation of pyrene in *Lumbricus variegatus* (Oligochaeta), *Science of the Total environment* 2009. 407 2666-2672p

MITSUI CHEMICALS: <http://www.mitsuichemicals.com/trebon.htm>, Megtekintés: 2011.11.22

MOUSSEAU, T. A. AND FOX, C. W. 1998 Maternal effects as adaptations., Oxford, UK: Oxford University Press. IN HALFER, N, EBIL, S, ULLER, T, PIKE, N: Transgenerational effects of food availability on age at maturity and reproductive output in an asexual collembolan species. *Biology Letters*, 2011. 7. 5p. 755-758p

NURSITA, A. I., SINGH, B AND. LEES, E: The effects of cadmium, copper, lead and zinc on the growth and reproduction of *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2005., 60, 306-314p

ODENTAL, J. P., REINECKE, A. J: The sublethal effects and accumulation of cadmium in terrestrial isopod *Porcellio laevis* Latr. (Crustacea, Isopoda) *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1999a. 36. 64-69p

ODENTAL, J. P., REINECKE, A. J.: The toxicity of sublethal lead concentrations for the woodlouse, *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda) *Biol Fertil soils* 1999b. 29. 146-151p

OECD GUIDELINES FOR TESTING CHEMICALS (232) Collembolan Reproduction Test in Soil, 2009.

PETERSEN, B, ET AL.: Copper accumulation and fitness of *Folsomia candida* Willem in a copper contaminated sandy soil as affected by pH and soil moisture, *Applied Soil Ecology* 1997. 6, 135-146p IN FOUNTAIN AND HOPKIN: Continuous monitoring of *Folsomia candida* (Insecta: -Collembola) in metal exposure test, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2001. 48. 275-285p

REZNICK, D, YANG, A. P.: The influence of fluctuating resources on life history patterns of allocation and plasticity in female guppies, *Ecology* 1993. 74. 2011-2019

R STATISZTIKAI PROGRAM: <http://www.r-project.org/>, Megtekintés: 2010.03.10

SCOTT-FORDSMAND, J. J. , KROGH, P. H. AND. HOPKIN, S. P: Toxicity of nickel to a soil-dwelling springtail, *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1999. 43, 57-61p

SAN MIHUEL, A, RAVETON, M, LEMPÉRIÈRE, G, RAVANEL, P: Phenylpyrazoles impact on *Folsomia candida* (Collembola), *Soil Biology & Biochemistry*, 2008. 40. 2351-2357p

STAEMPFLI, C., TARRADELLAS, J. AND BECKER-VAN SOOLTEN, K.: Effects of dinoseb on the energy reserves in the soil arthropod *Folsomia candida*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2007. 68, 263-271p

STERENBORG, I, ROELOFS, D: Field-selected cadmium tolerance in the springtail *Orchesella cincta* is correlated with increased metallothionein mRNA expression, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2003. 33. 7. 741-747p

TIMMERMANS, M. J, ROELOFS, T. N. D, MARIËN, J AND VAN STRAALLEN, N. M.: Revealing pancrustacean relationships: Phylogenetic analysis of ribosomal protein genes places Collembola (springtails) in a monophyletic Hexapoda and reinforces the discrepancy between mitochondrial and nuclear DNA markers, *BMC Evolutionary Biology*, 2008. 8. 83. p. 1471-2148p

TULLY, T, FERRIERE, R. :Reproductive flexibility: genetic variation, genetic costs and long-term evolution in a Collembola, *PLoS ONE*, 2008. 3. 9. e3207, 11 oldal, URL: <http://www.plosone.org/article/info:doi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0003207>, Letöltés időpontja: 2011. 02.13.

WALKER, C. H, HOPKIN, S. P, SIBLY, R. M, PEAKAL, L D. B.: Principles of Ecotoxicology: Third Edition, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2006., 33-43p, 199p, 264-265p

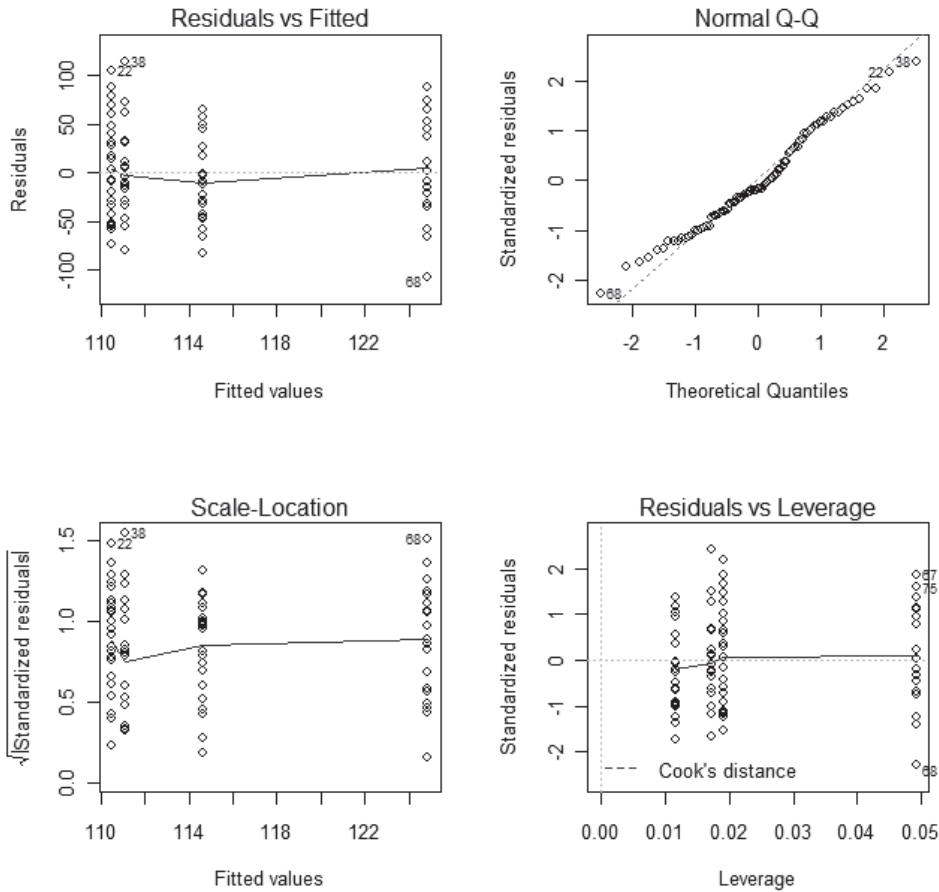
9. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Hornung Erzsébetnek és Szabó Péternek, amiért átsegítettek a kezdeti nehézségeken, Ványiné Surman Ildikónak, amiért bevezetett a labormunka rejtelmeibe, Lang Zsoltnak, amiért olyan sok tanácsot adott a statisztikai részekhez és végül, de nem utolsó sorban Bakonyi Gábornak, amiért végig segítette a munkámat.

10. Függelék

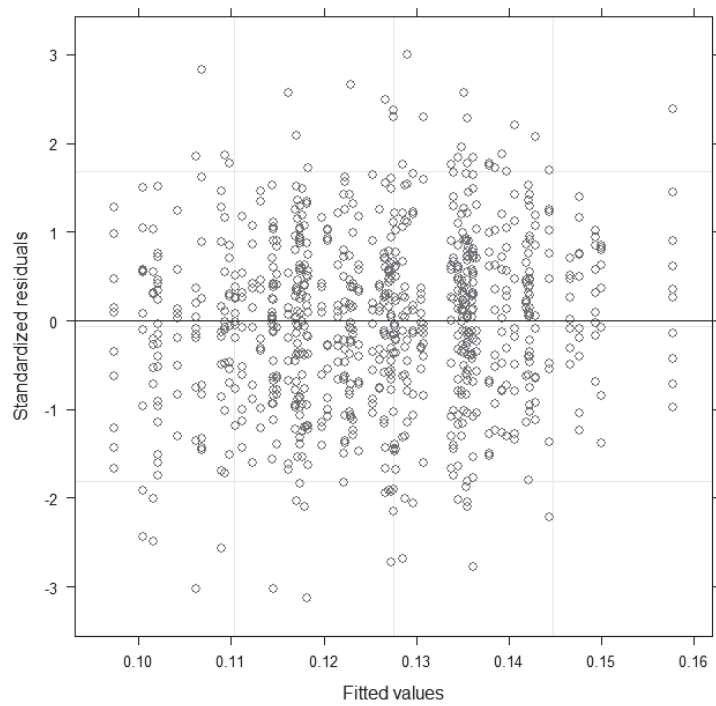
Szülőgeneráció modelldiagnosztikai ábrái:

A peteszámot a koncentráció függvényében vizsgáló általános lineáris modell
diagnosztikai ábrái:

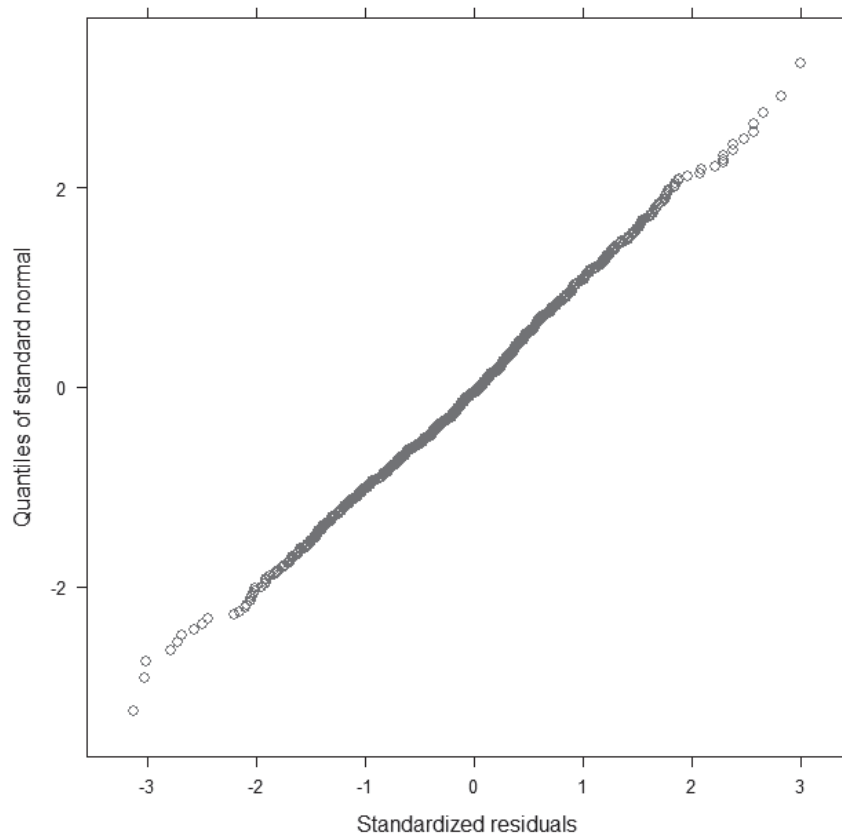


Az átmérőt, a koncentráció függvényében vizsgáló modell diagnosztikai ábrái:

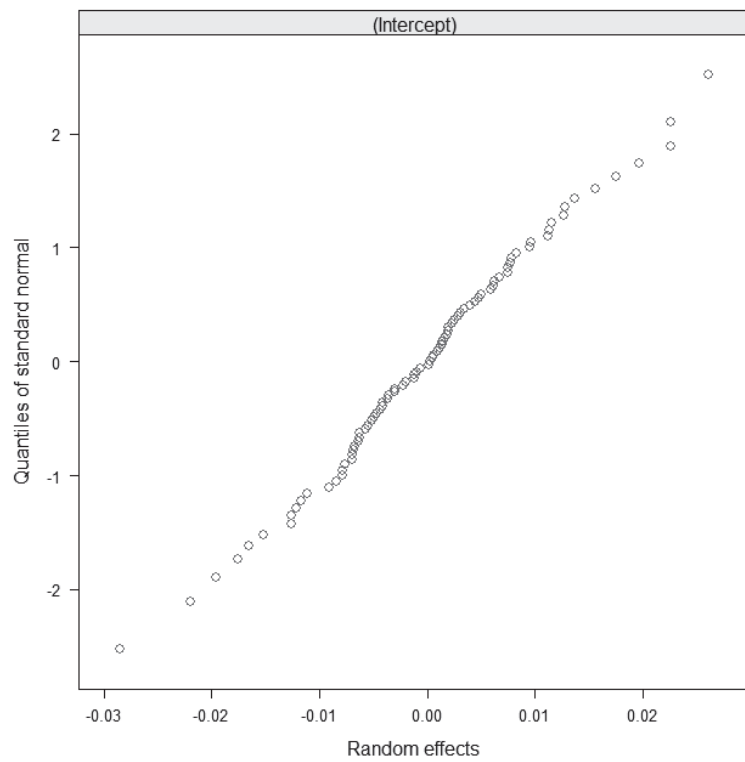
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása:

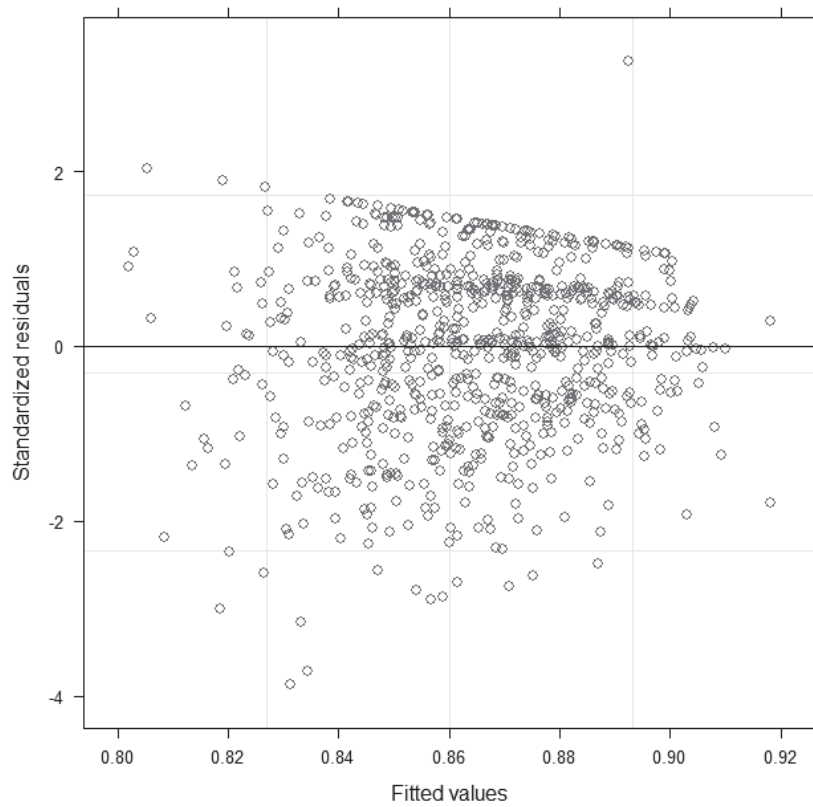


A random tagok normalitása:

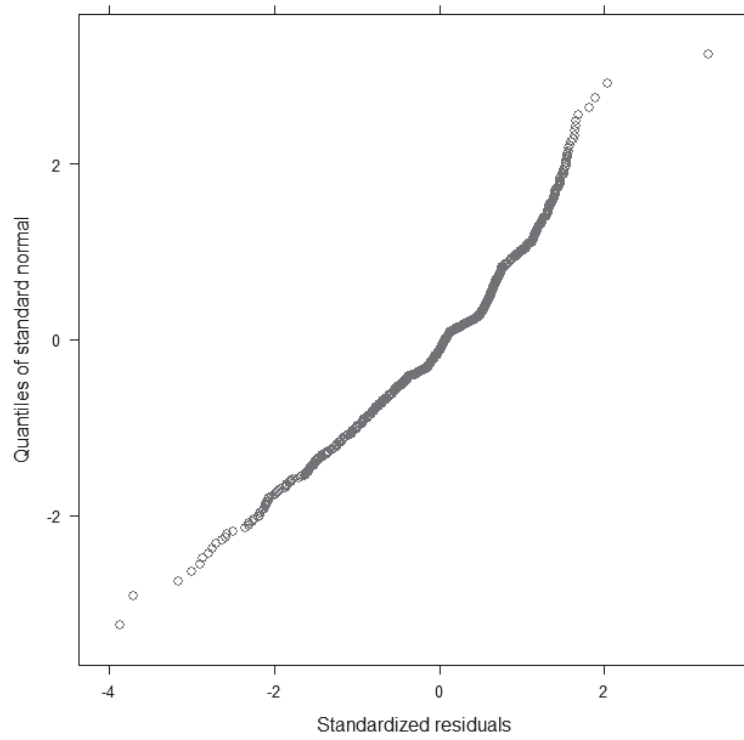


Az átmérők arányát vizsgáló modell, melyben az átmérő és a koncentráció is szerepel:

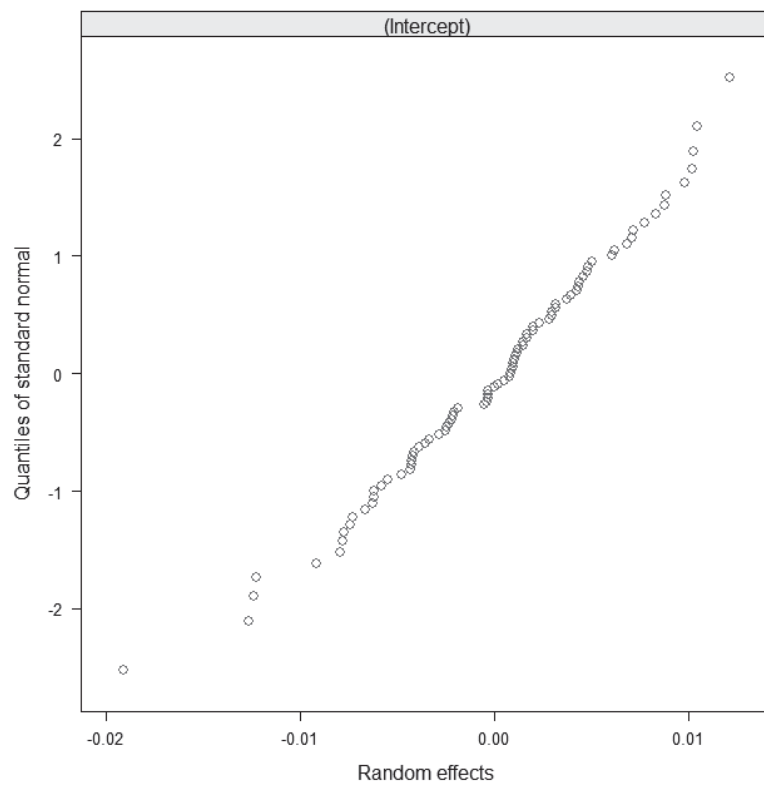
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása:

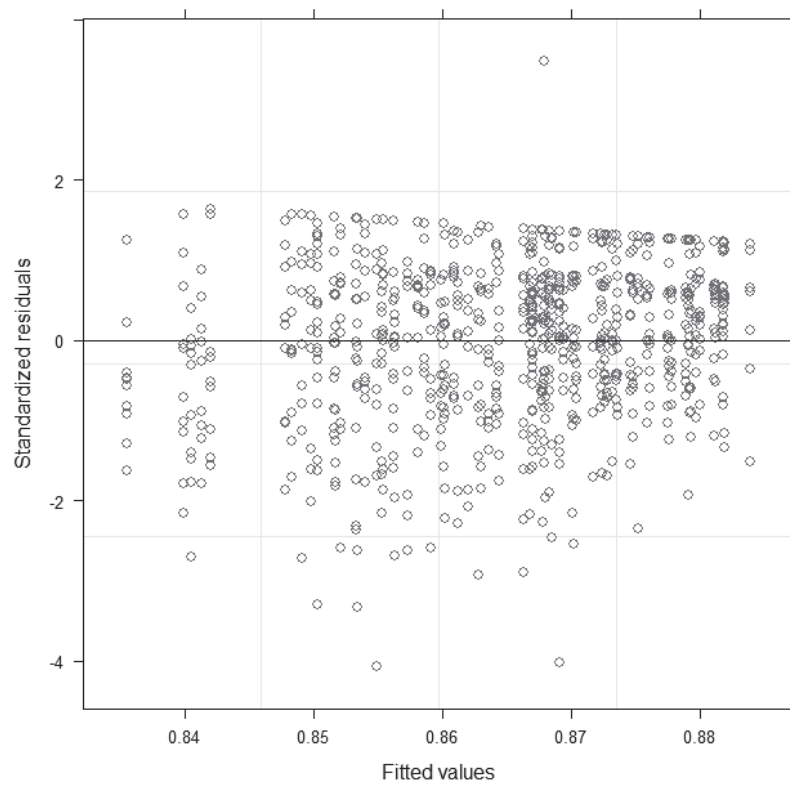


A random tagok normalitása:

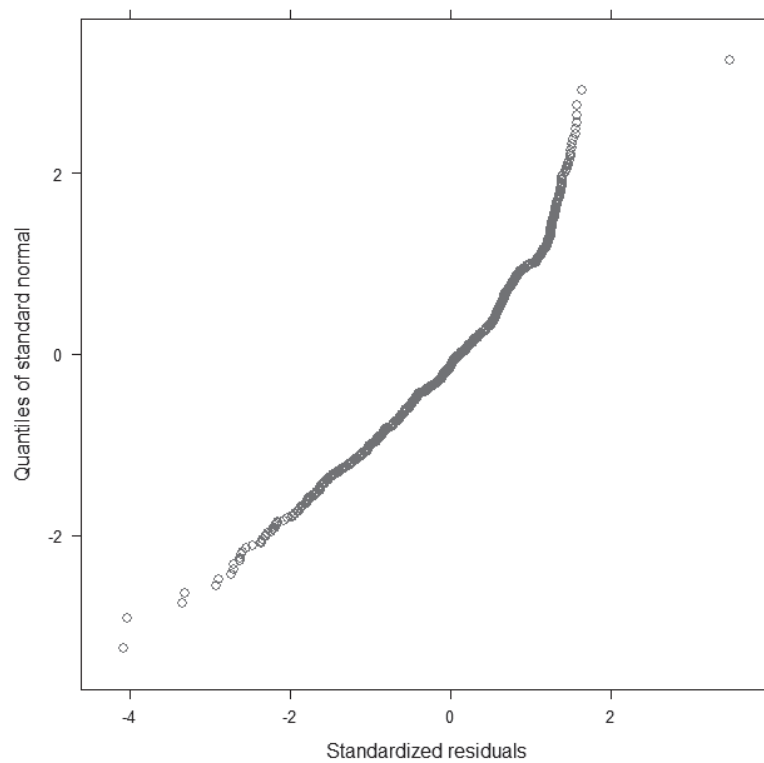


Az átmérők arányát vizsgáló modell, melyben csak a koncentráció szerepel:

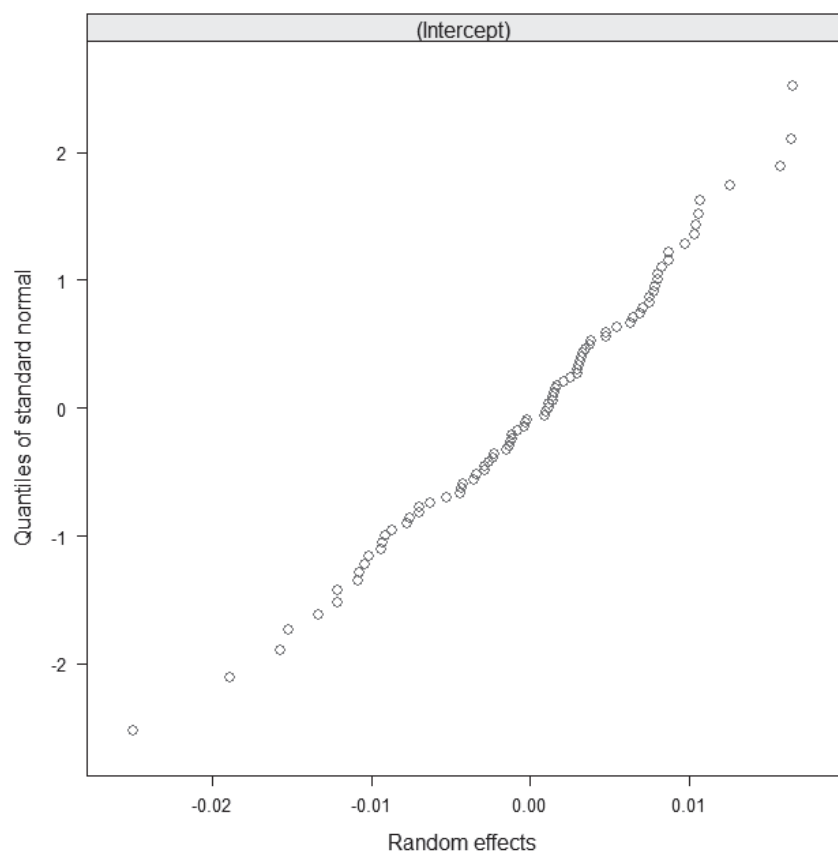
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása:

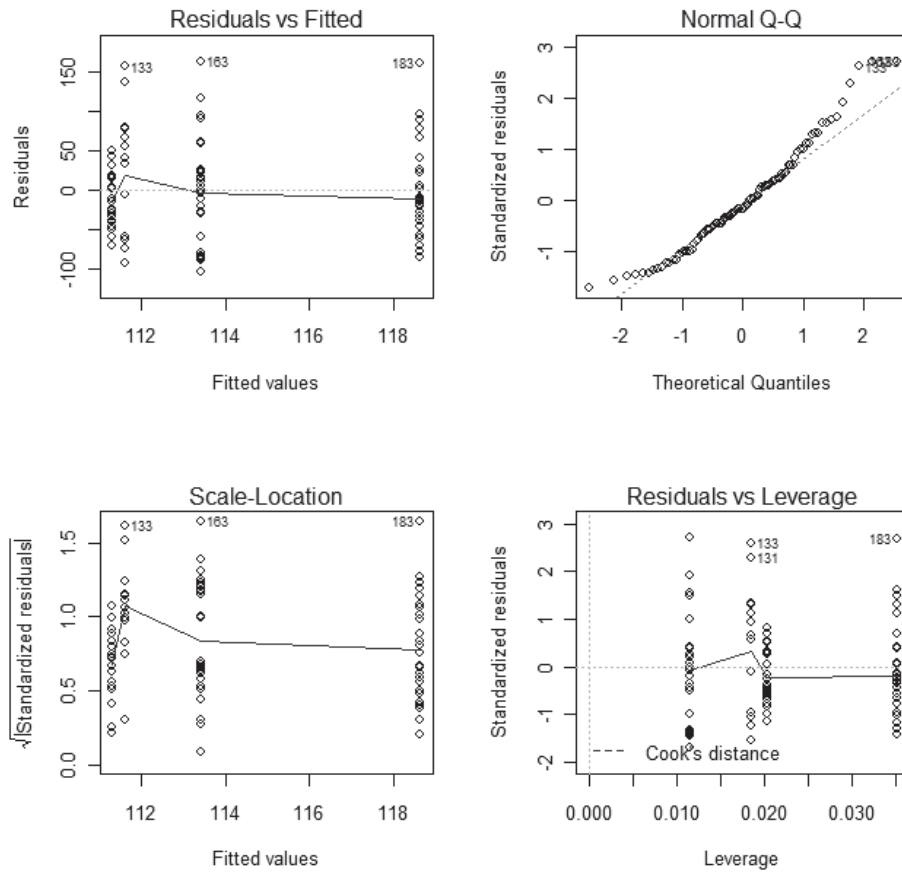


A random tagok normalitása:



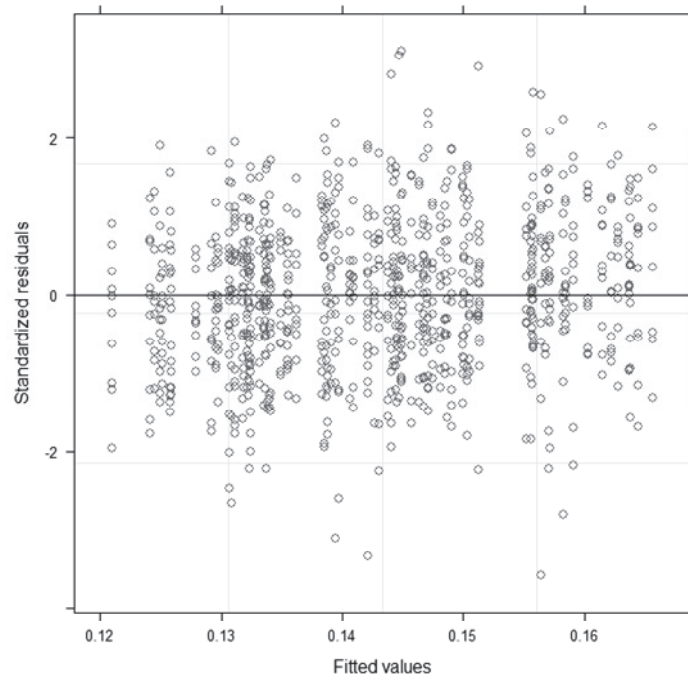
Az első generáció, azon csoportjának, melyben csak a szülők lettek kezelve az utódok nem, diagnosztikai ábrái:

Peteszámot a koncentráció függvényében vizsgáló általános lineáris modell diagnosztikája:

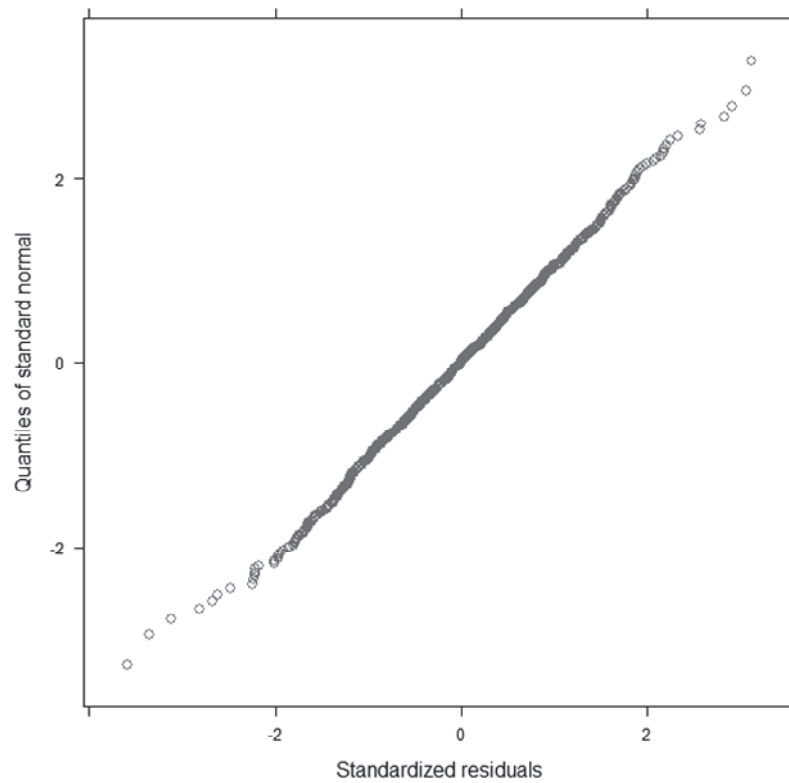


Az átmérőt a koncentráció és a peteszám függvényében vizsgáló modell diagnosztikai ábrái:

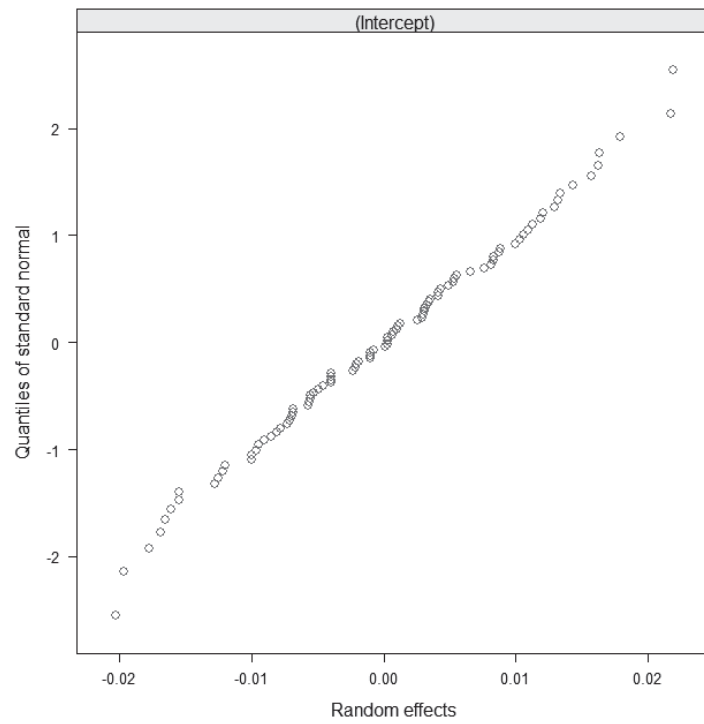
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása:

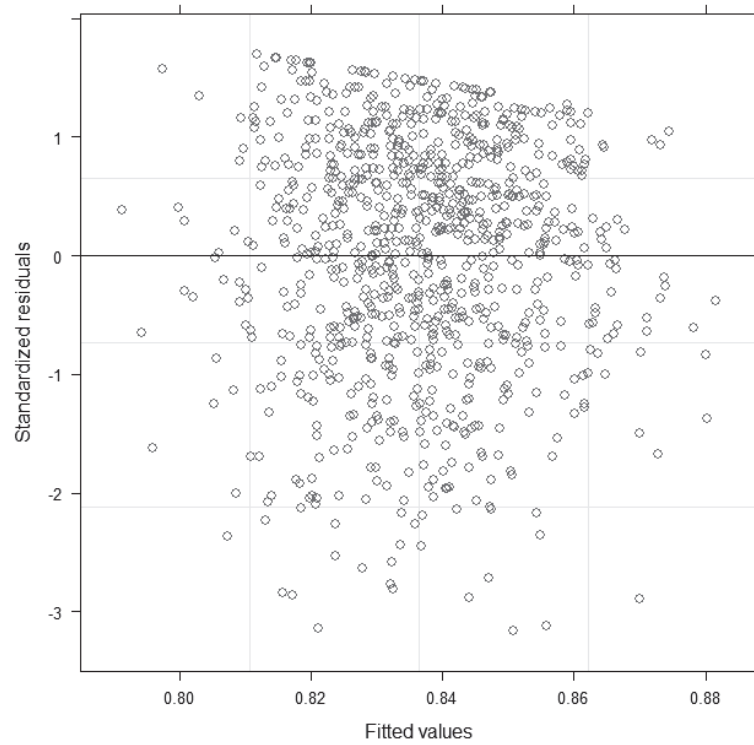


A random tagok normalitása:

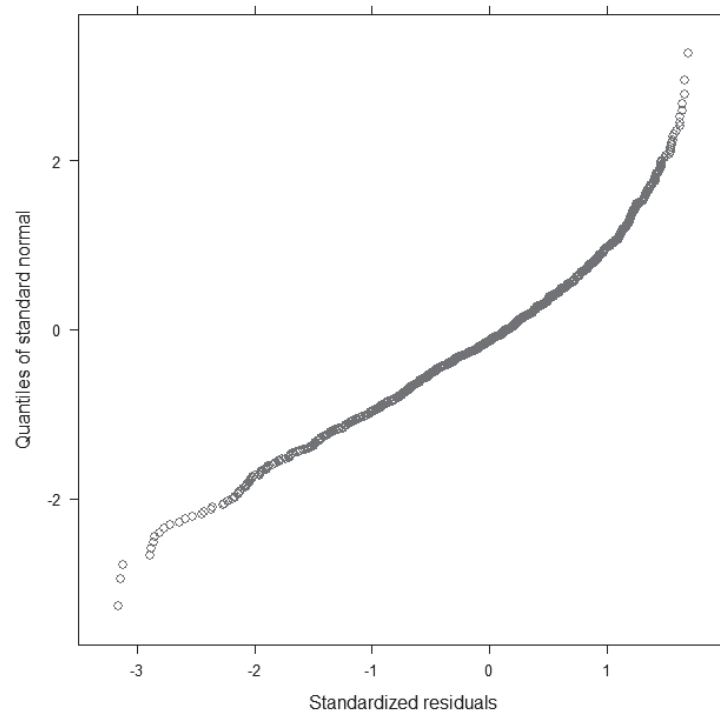


Az átmérők arányát vizsgáló modell, melyben a koncentráció és az átmérő is jelen van, diagnosztikája:

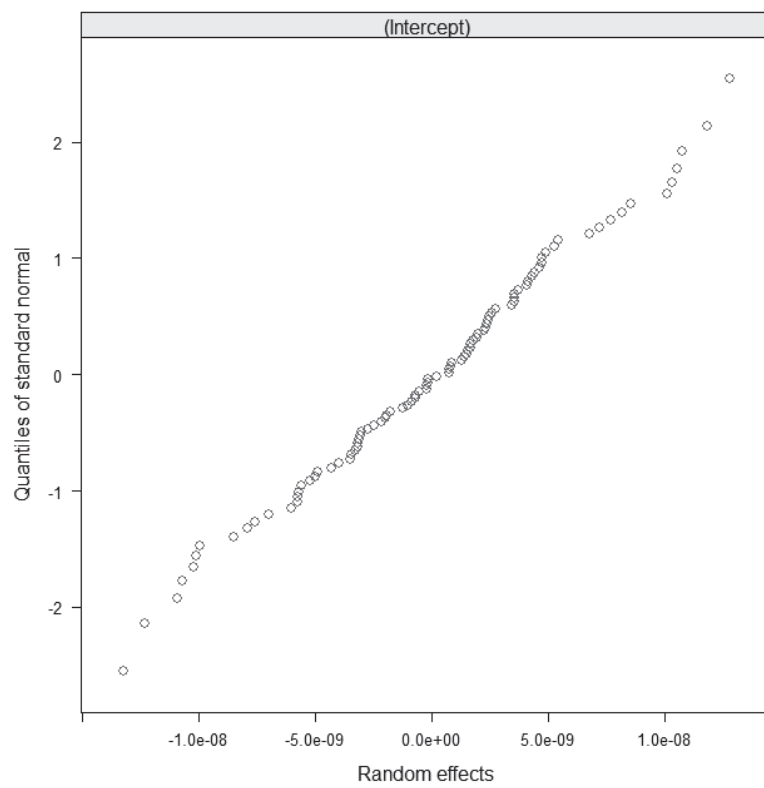
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása:

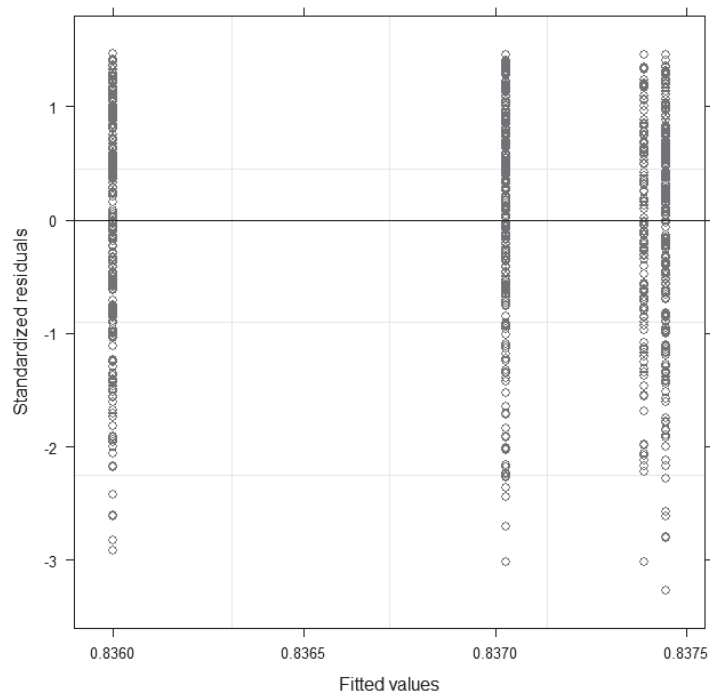


A random tagok normalitása:

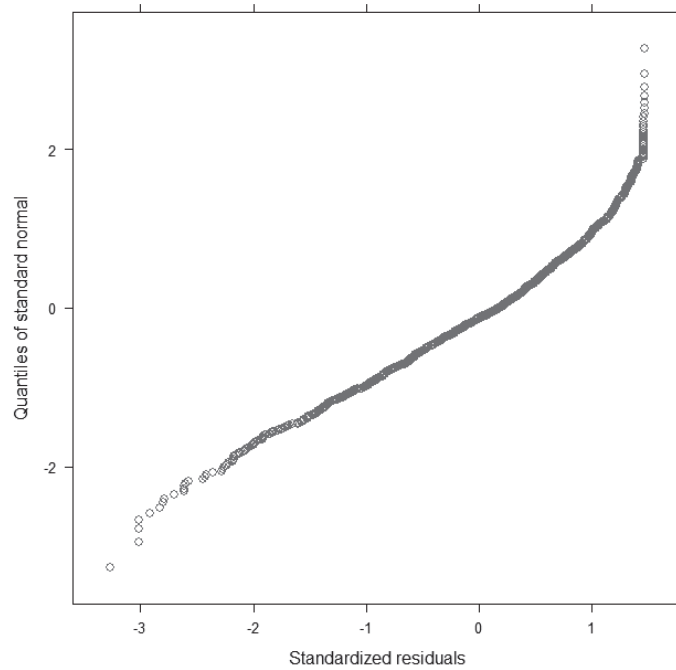


Az arányt a koncentráció függvényében vizsgáló modell diagnosztikája:

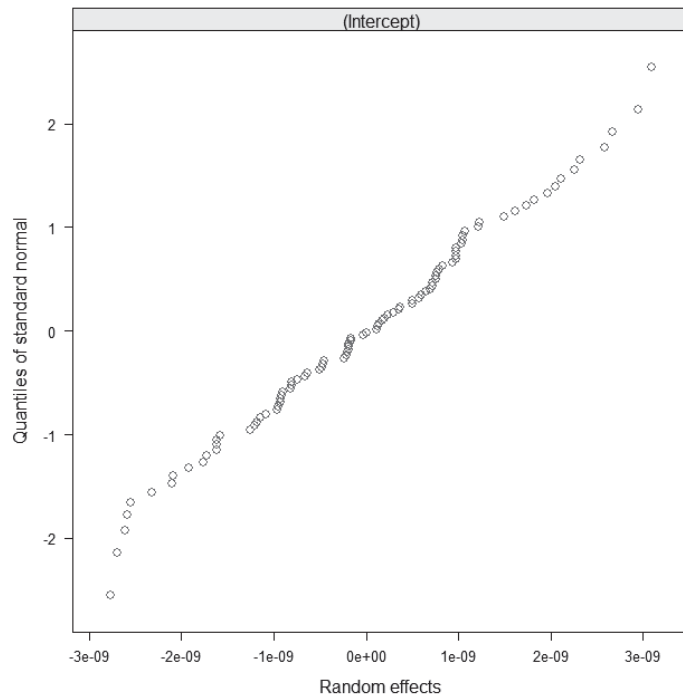
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása.

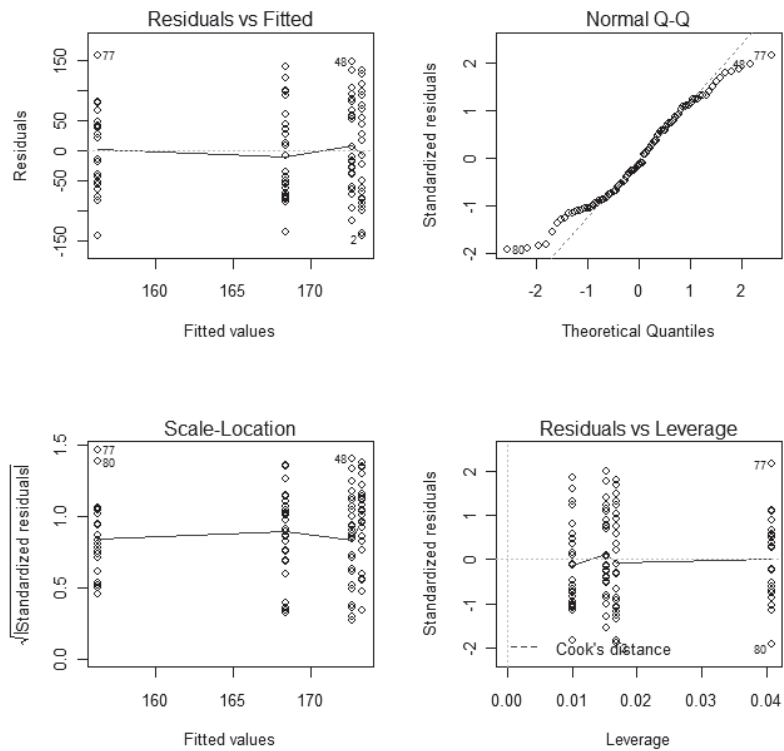


A random tagok normalitása:



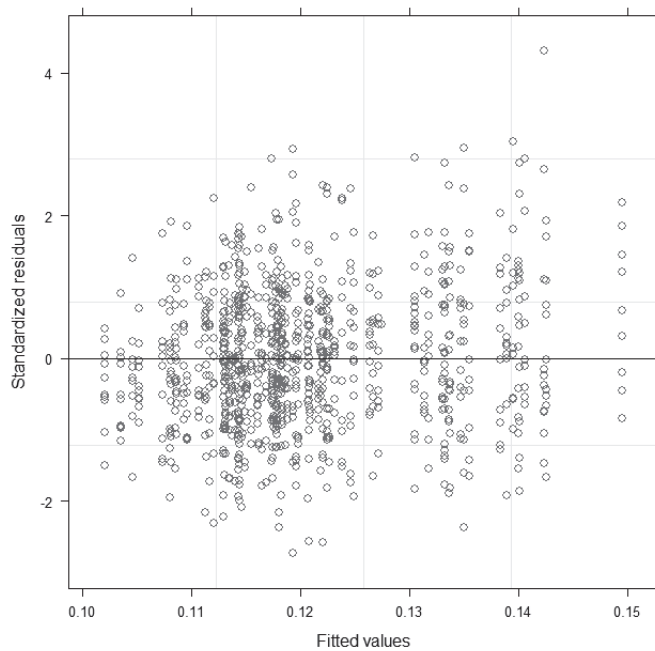
Az első generáció, azon csoportjának, melyben a szülők lettek és az utódok is kezelve lettek, diagnosztikai ábrái:

A peteszámot a koncentráció függvényében vizsgáló lineáris modell diagnosztikája:

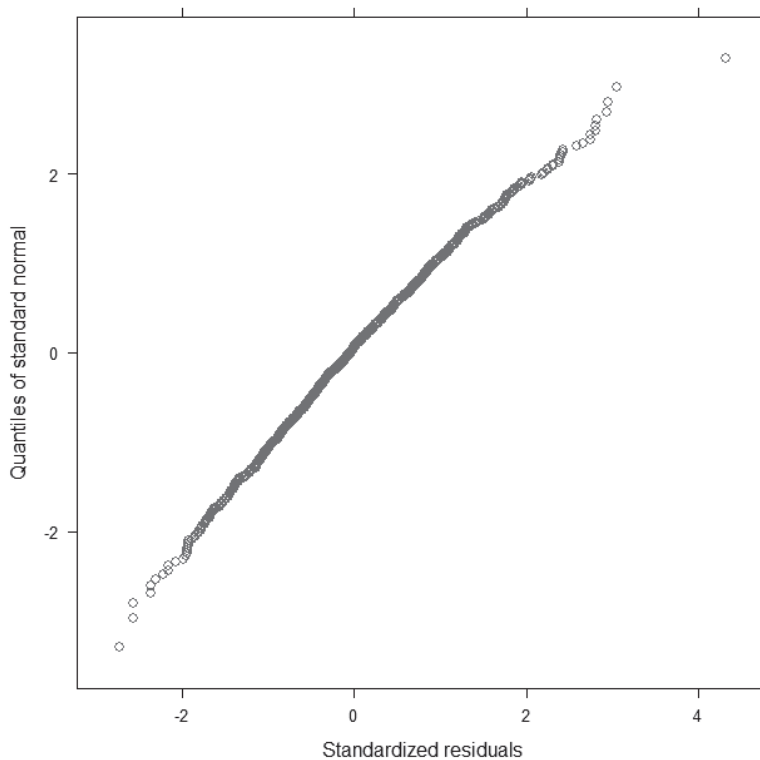


Az átmérőt a koncentráció és a peteszám függvényében vizsgáló modell diagnosztikája:

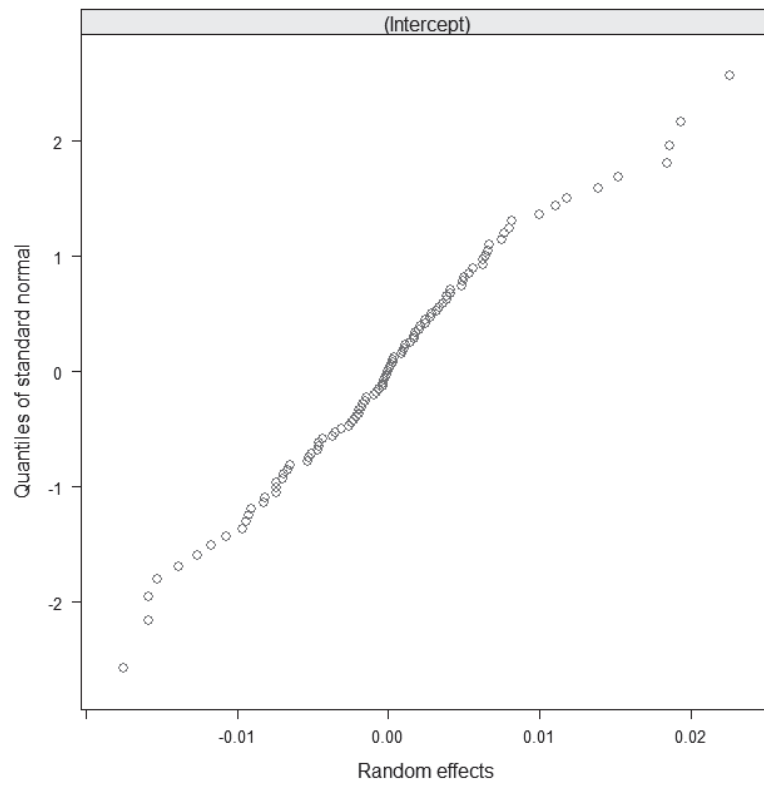
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása:

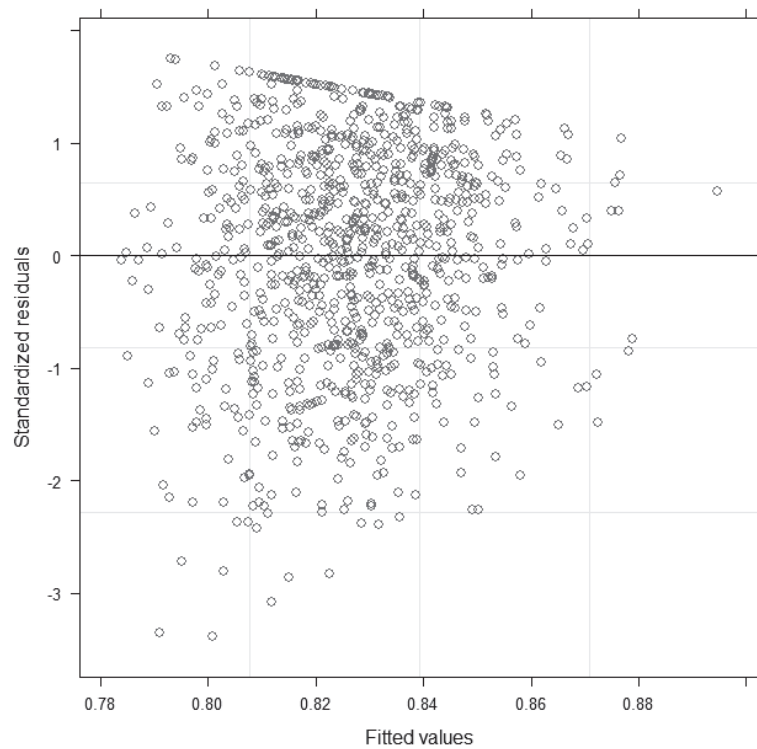


A random tagok normalitása.

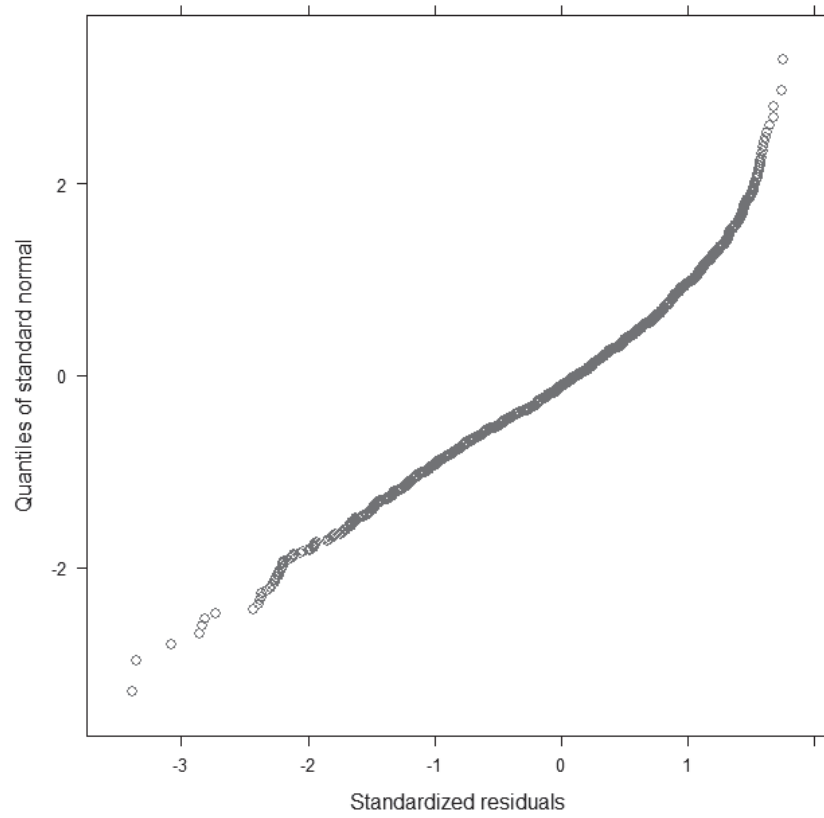


Az arányt a koncentráció és az átmérő függvényében vizsgáló modell diagnosztikája:

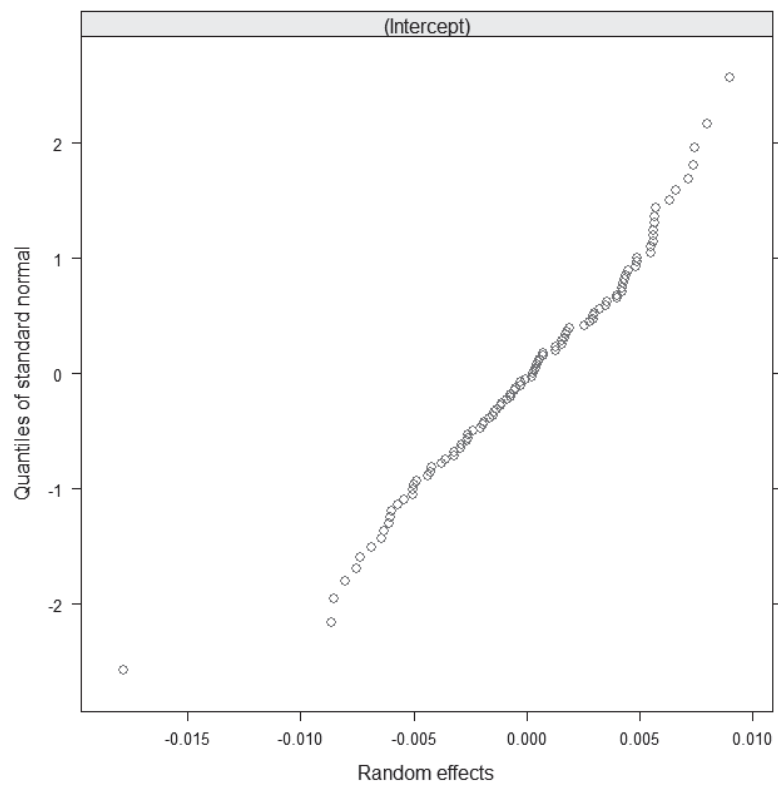
A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása.

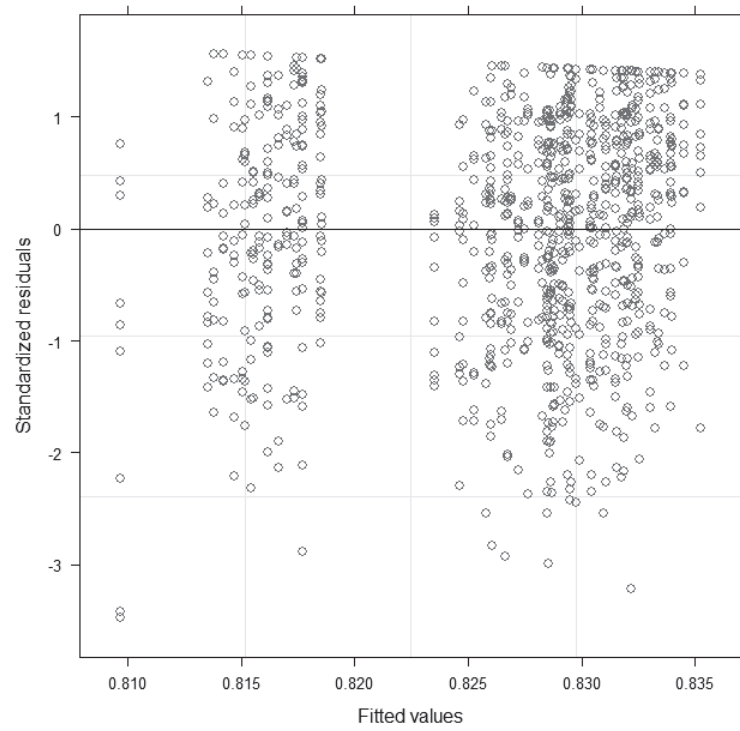


A random tagok normalitása:

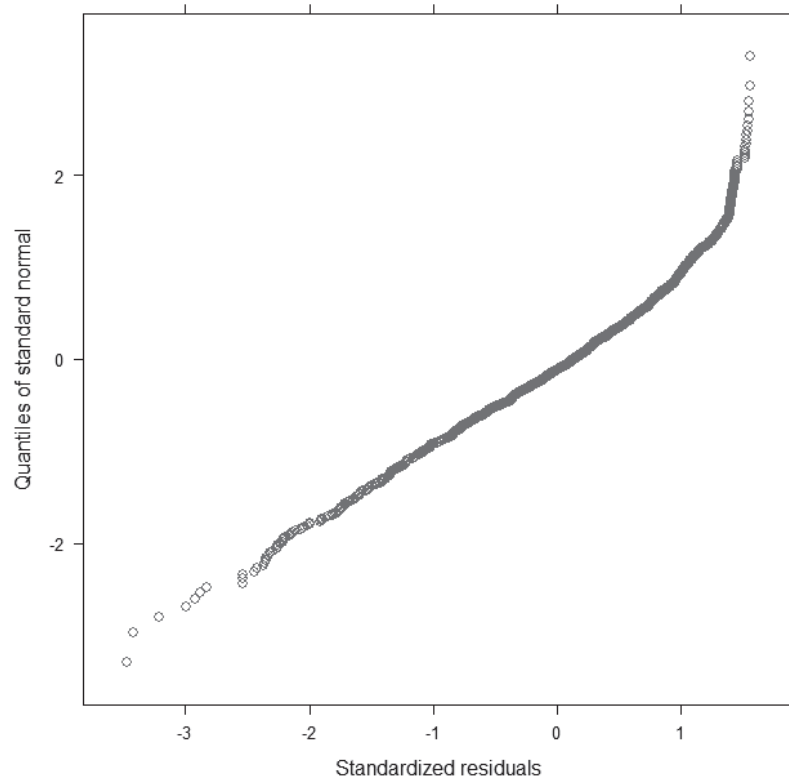


Az arányt a koncentráció függvényében vizsgáló modell diagnosztikája:

A rezidumok varianciája:



Az adatok normalitása:



A random tagok normalitása:

