

CYREN EC és a réz-szulfát egyedi és együttes toxicitásának vizsgálata házityúk-embriókon, a fejlődés korai szakaszában

Major László*, Budai Péter, Buda István, Szemerédy Géza és Szabó Rita

Pannon Egyetem Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet 8360 Keszthely, Deák F. u. 16.

**e-mail: szamuraj0007@gmail.com*

Összefoglalás

Vizsgálatunkban egy széles körben felhasznált szerves foszforsavészter típusú inszekticid, a 480 g/l klórpírifosz hatóanyag tartalmú CYREN EC és a környezet fémterhelését modellező réz-szulfát egyedi és együttes méreghatását tanulmányoztuk, fejlődő házityúk-embriókon, a fejlődés korai szakaszában. Kísérleti anyagként, 0,01%-os réz-szulfát-oldatot és a CYREN EC rovarölő szer 0,5%-os emulzióját alkalmaztuk. A bemeztési kezelések elvégzésére a keltetést megelőzően került sor, majd a korai fejlődési stádium vizsgálata céljából, az embriókból csírákorong metszetet készítettünk a keltetés harmadik napján. A tárgylemezen rögzített és ozmium-tetroxid oldattal festett embriókat fénymikroszkóp alatt tanulmányoztuk. Az embriómortalitási adatok és a fejlődési rendellenességek biometriai értékelése Fisher-féle egzakt teszttel történt.

A kísérlet során nyert adatok részletes statisztikai elemzése alapján elmondható, hogy a réz-szulfáttal és a CYREN EC inszekticiddel egyedileg és együttesen kezelt csoportokban, az embriómortalitás kismértékben fokozódott a kontrollhoz képest, de az eltérések statisztikailag nem voltak igazolhatók.

A fejlődési rendellenességet mutató embriók előfordulási gyakorisága az egyedileg kezelt csoportokban sporadikus volt, ellenben az interakcióban szignifikáns mértékű ($p < 0,05$) eltérés mutatkozott a kontrollal összehasonlítva. A kezelések eredményeként, a malformációk kapcsán gyengén fejlett test és szikérhálózat, valamint ödémás, torz fej volt megfigyelhető. A kísérletben felhasznált réz-szulfát oldatának és a CYREN EC rovarölő szer emulziójának egyedi és együttes méreghatása toxikusnak bizonyult a tojásban fejlődő embrióra nézve. Az interakcióban az egyidejűleg alkalmazott xenobiotikumok additív jellegű együttes méreghatása érvényesült. Teratogén hatás nem volt igazolható.

Kulcsszavak: klórpírifosz, réz-szulfát, interakció, ökotoxikológia, házityúk-embrió

Abstract

The aim of this study was to determine the individual and combined toxic effects of CYREN EC chlorpyrifos containing insecticide (480 g/l) and copper sulphate on the early embryonic development of chicken embryos. On the first day of incubation, chicken eggs were dipped in the solution or emulsion of the test materials for 30 minutes. The concentration of copper sulphate was 0.01% while the concentration of the insecticide CYREN EC was 0.5%. Permanent preparations were made from embryos by staining with osmium tetroxide on the 3th day of incubation in order to study the early stage of development. The embryo mortality and the abnormalities were analysed with Fisher test.

Our teratogenicity study revealed that, combined administration of copper sulphate and chlorpyrifos containing insecticide formulation (CYREN EC) caused a significant increase in the developmental anomalies of embryos.

The individual and combined toxic effects of CYREN EC and copper sulphate were embryo toxic but not teratogenic in chicken. There were presumably additive toxic interaction between copper and CYREN EC.

Keywords: chlorpyrifos, copper sulphate, joint toxic action, ecotoxicology, chicken embryo

Bevezetés

Az élő szervezetek védelmének biztosítása, egyensúlyi állapotának fenntartása érdekében, a toxikus nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes méreghatásainak ökotoxikológiai vizsgálatokból származó eredményei kiemelt fontossággal bírnak.

A mezőgazdasági termelésen belül a kémiai növényvédelem az egyik leginkább környezetterhelő terület. A növényvédelmi gyakorlatban felhasznált peszticidek az élő szervezetek kémiai környezetét módosítják, ezáltal valószínűsítik a mérgezés lehetőségét. A környezetben jelenlévő nehézfémek a fennálló természeti rendszerben élő szervezetekre szintúgy toxikus hatást gyakorolnak. Az egyedi méreghatások mellett a különböző xenobiotikumok interakcióba is léphetnek egymással, együttes méreghatást kiváltva a nem célszervezetekben (Szemerédy és mtsai, 2018).

A környezeti rézterhelés jellemzően az ipari és a mezőgazdasági termelésből ered. A rézet a növénytermesztésen belül egyrészt tápanyagként, másrészt gombaölő szerként (réz(II)-szulfát) alkalmazzák (Seprős, 2002). Ipari területek közelében és mezőgazdasági területeken a talajok

réztartalma jelentősen magasabb. A réz leginkább a talajok felső, néhány centiméteres rétegében koncentrálódik (Georgopoulos és mtsai, 2002).

Ismert, hogy a vadon élő madarak költési ideje általában áprilistól május végéig tart, amely egy időben zajlik az integrált növényvédelmi munkák során felhasználásra kerülő növényvédő szerek kijuttatási idejével. A fácán ezen aspektusból veszélyeztetett fajnak számít. A kifejlett egyedek és a tojásokban fejlődő embriók is jelentős toxikológiai kockázatnak vannak kitéve (Szabó és mtsai, 2013).

A házityúk-embriókon végzett madárteratológiai kísérletek eredményei alkalmasak más madárfajok (fűrj, fogoly, tőkés réce) esetleges mérgezési veszélyének jellemezésére is. Extrapolálással jó közelítést kaphatunk a vadon élő madarakra kifejtett hatásokról.

Anyag és módszer

Kísérletünkben 0,01%-os koncentrációjú réz-szulfát-oldattal (REANAL Laborvegyyszer Kereskedelmi Kft., Budapest, Magyarország) végeztük az egyedi és az együttes kezeléseket. A 480 g/l klórpírifosz hatóanyag tartalmú CYREN EC (FMC-Agro Hungary Kft., Budapest, Magyarország) rovarölő szert az egyedi és az együttes kezelések során gyakorlati permetlé töménységben (0,5%) alkalmaztuk. A vizsgálathoz szükséges termékeny házityúk-tojások (Farm color fajtájú) a Goldavis Kft. (Sármellék, Magyarország) keltető üzeméből kerültek beszerzésre.

A tojások keltetésére RAGUS[®] (Wien, Ausztria) típusú asztali keltetőgépet használtunk. A keltetés során, a házityúk embrionális fejlődéséhez biztosítottuk a megfelelő hőmérsékletet (37,5–37,8°C) és páratartalmat (55–65%), továbbá a letapadás elkerülése érdekében a keltetőben lévő tojásokat naponta kétszer forgattuk (Bogenfurst, 2004).

A termékeny tojásokat homológ csoportokba osztottuk, méretük és tömegük szerint hasonló eloszlásban. A bemeztetéses kezelést az inkubáció megkezdése előtt, a keltetés első napján hajtottuk végre, amely során a tojásokat 30 percre a vizsgálati anyagok megfelelő koncentrációjú, 38 °C-os oldatába, valamint emulziójába helyeztük. A feldolgozást a keltetés 3. napján végeztük el, csoportonként 15 db termékeny tojáson.

A vizsgálat során, a tojásokat laborcspesz és olló segítségével a légkamránál felbontottuk. Eltávolításra került a légkamrát fedő mészhéj és az embriót határoló héjmembrán, továbbá az embrió feletti felesleges tojáshéjréjt leöntöttük. A csírákorongra 1 csepp, 0,01%-os ozmium-tetroxidot cseppentettünk, megfestve és fixálva az embriót, ami így könnyebben vizsgálhatóvá vált. A következő lépésben szűrőpapír-korongot helyeztünk a csírapajzsra. A szűrőpapírt körbevágtuk és a rátapadt embrióval együtt madárfiziológias sóoldatba (0,75v% NaCl)

helyeztük. Az embriót óvatosan, csipesz segítségével leválasztottuk a szűrőpapír-korongról és tárgylemezre úsztattuk. A tárgylemezről a felesleges folyadék leitatásra került és az így készített csírákorong metszetet fénymikroszkóp alatt tanulmányoztuk (Szabó, 2009).

Ezzel a módszerrel felmérhető és megismerhető az embrió fejlődési állapota, az esetleges morfológiai elváltozások mértéke és típusa a fejlődés korai stádiumában (Sinkovicsné és Benkő, 1993; Kertész, 2001).

A korai embrionális fejlődési vizsgálat során kapott embriómortalitási adatok és a fejlődési rendellenességek biometriai értékelésére Fisher-féle egzakt tesztet alkalmaztunk (Baráth és mtsai, 1996). A statisztikai vizsgálat során, a szignifikancia minimum értékének a $p < 0,05$ szintet tekintettük.

Eredmények

A kontroll csoportban sem embrióelhalást, sem fejlődési rendellenességet nem tapasztaltunk.

A réz-szulfát 0,01%-os töménységű oldatával egyedileg kezelt csoport esetében a 15 termékeny tojásból egy embrió halt el (6,66%). 14 élő embrió közül kettőnél tapasztaltunk fejlődési rendellenességet (14,28%). Mindkét esetben gyengén fejlett test és gyengén fejlett szikérhálózat volt megfigyelhető. Az embrióelhalások számának és a fejlődési rendellenességek gyakoriságának kismértékű növekedése statisztikailag nem volt igazolható.

A CYREN EC inszekticid 0,5%-os koncentrációjú emulziójával egyedileg kezelt csoport vizsgálatakor a 15 termékeny tojásból 2 embrió pusztult el (13,33%). Az élő embriók közül háromnál a mikroszkópos vizsgálat gyengén fejlett testet és gyengén fejlett szikérhálózatot mutatott (23,07%). Az embriómortalításban és a malformációk gyakoriságában szignifikáns eltérést a kontroll csoporthoz képest nem tapasztaltunk.

Az együttes kezelés alkalmával a 15 termékeny tojásból 3 embrió halt el (20%). A csoport vizsgálata során 4 élő embriónál tapasztaltunk morfológiai elváltozást (33,33%). Három embriónál torz és ödémás fej, míg egy embriónál gyengén fejlett test és gyengén fejlett szikérhálózat jött létre. A kombinált kezelés a fejlődési rendellenességek gyakoriságának szignifikáns ($p < 0,05$) növekedését eredményezte a kontroll csoporttal összehasonlítva, viszont az embrióletalitás fokozódása statisztikailag nem volt igazolható. Az interakcióban az egyedileg kezelt csoportokhoz viszonyítva szignifikáns eltérést a vizsgált paraméterekben nem tapasztaltunk.

Megvitatás

Korábban Szabó és mtsai (2011), valamint Juhász és mtsai (2006) is leírták, hogy a 0,01%-os réz-szulfáttal való kezelés hatására növekedést figyeltek meg a fejlődési rendellenességek arányában, azonban ez nem volt szignifikáns mértékű.

Lehel és mtsai (2014) a 0,05%-os réz-szulfát oldattal és a klórpírifosz hatóanyagú Pyrinex 48 EC 1%-os emulziójával végeztek injektálásos teratológiai vizsgálatot. A réz-szulfáttal egyedileg kezelt csoportnál a korai fejlődési vizsgálatban az embrióletalitás és a malformációk kapcsán statisztikailag igazolható eltérést nem tapasztaltak. A klórpírifosz hatóanyagú Pyrinex 48 EC-vel egyedileg kezelt csoport esetében nőtt a fejlődési rendellenességek aránya, az embriómortalitás már szignifikáns növekedést mutatott a kontroll csoporthoz képest az embriófejlődés korai stádiumában. Az együttes kezelés eredményeként a keltetés 3. napján az embriómortalitás előfordulásának gyakorisága szignifikánsan növekedett a kontrollhoz, illetve a réz-szulfáttal és a rovarölő szerrel önállóan kezelt csoportokhoz képest is. A kombinált kezelés eredményeképpen statisztikailag igazolhatóan emelkedett a malformációk aránya a kontrollal összevetve.

Vizsgálatainkban a 0,01%-os réz-szulfáttal és a 0,5%-os CYREN EC inszekticiddel elvégzett egyedi és együttes kezelések embriótoxikusnak bizonyultak a fejlődés korai időszakában a házityúk-embrióra. Az embrióelhalások gyakoriságának kismértékű növekedését tapasztaltuk a kezelt csoportokban, de a kontrollhoz viszonyított eltérések nem voltak szignifikáns mértékűek. A fejlődési rendellenességek az egyedileg kezelt csoportokban sporadikusan fordultak elő, az interakcióban viszont a morfológiai elváltozások gyakorisága szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) fokozódott a kontrollhoz képest. Az egyidejűleg alkalmazott xenobiotikumok additív jellegű együttes méreghatása érvényesült. Teratogén hatás nem volt igazolható.

Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Hivatkozások

- Baráth Cs., Ittész A. és Ugrosdy Gy. 1996. Biometria. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 37-217.
Bogenfürst F. 2004. A keltetés kézikönyve. Gazda Kiadó. Budapest. 42-63.

- Georgopoulos, P. G., Roy, A., Opiekun, R. E., Lioy, P. J. and Yonone-Lioy, M. J. 2002. Environmental Dynamics and Human Exposure to Copper. Vol. 1, Environmental Dynamics and Human Exposure Issues. New York: International Copper Association.
- Juhász É., Szabó R., Keserű M., Budai P. és Várnagy L. 2006. Toxicity of a pendimethalin containing herbicide formulation and three heavy metals in chicken embryos. *Comm. Appl. Biol. Sci.*, Ghent University, 71. 107-110.
- Kertész V. 2001. Nehézfémek és PAH-vegyületek embrionális fejlődésre gyakorolt hatása madarakon. Doktori (PhD) értekezés. SZIE MKK. Gödöllő.
- Lehel J., Szabó R., Gajcsi D., Jakab Cs., Grúz A., Kormos É. és Budai P. 2014. A réz-szulfát és a klórpiprifosz interakciós toxicitási vizsgálata csirkeembrión. *Magy. Áo. Lapja*, 136. 494-500.
- Seprős I. (szerk.) 2002. Növényorvosi (permetezési) tanácsok. Szaktudás Kiadó, Budapest. 248.
- Sinkovitsné H. I. és Benkő Z. 1993. Foszforsavészterek hatása a csirkeembrió fejlődésére. *Állattani közlemények*. 79. 95-103.
- Szabó R. 2009. Környezetszennyező nehézfémek (réz, kadmium) és herbicidek (Dual Gold 960 EC, Stomp 330 EC) egyedi és együttes toxicitása házityúk-embriókon, Doktori (PhD) Értekezés. Pannon Egyetem Georgikon Kar, Keszthely. 77-85.
- Szabó R., Budai P., Lehel J. and Kormos É. 2011. Toxicity of s-metolachlor containing formulation and heavy metals to chicken embryos. *Comm. Agr. Appl. Biol. Sci.*, Ghent University, 76. 931-938.
- Szabó R., Kormos É., Antal D., Somody G., Lehel J., Rakos A. és Budai P. 2013. Quizalofop-P-etil hatóanyagú gyomirtó szer (Leopard 5 EC) és a réz együttes méreg hatásának vizsgálata házityúk-embriókon. XXIII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum, Keszthely, 2013. január 23-25. *Georgikon for Agriculture*, 16. 1. 177-181.
- Szemerédy, G., Szabó, R., Lehel, J. és Budai, P. 2018. A réz-szulfát és a Cyren EC interakciós toxicitásának vizsgálata madárembriókban. TOX'2018. Lillafüred, 2018. október 17-19. *Kivonatok*, C4-9.