

2,4-D hatóanyag-tartalmú gyomirtó szer és kadmium-szulfát együttes hatásának teratológiai vizsgálata házityúk-embriókban

Szemerédy Géza¹*, Major László¹, Szabó Rita¹, Buda István¹, Lehel József² és Budai Péter¹

¹Pannon Egyetem Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet, 8360 Keszthely, Deák F. u. 16.

²Állatorvostudományi Egyetem, Élelmiszer-higiéniai Tanszék, 1078 Budapest, István u. 2.

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

Összefoglalás

A 2,4-D hatóanyagú DEZORMON gyomirtó szer és a környezeti fémterhelést modellező kadmium-szulfát egyedi és interakciós méreghatását tanulmányoztuk fejlődő házityúk-embriókban. Kísérleti anyagként 0,01%-os kadmium-szulfát-oldatot, valamint a DEZORMON (600 g/l 2,4-D dimetilamin só) 0,5%-os emulzióját alkalmaztuk. A bemelegítési kezelést a keltetés megkezdése előtt, míg a feldolgozását a keltetés 19. napján végeztük el. A kórbontani vizsgálat során lemértük az embriók testtömegét, rögzítettük az elhalások számát, továbbá feljegyeztük a makroszkópos fejlődési rendellenességeket. A kísérleti anyagokkal elvégzett egyedi és együttes kezelések eredményeként a kezelt csoportokban az embriók testtömeg értékei kisebbek voltak, a DEZORMON gyomirtó szerrel egyedileg kezelt csoport kivételével az eltérések szignifikáns mértékűek voltak a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az embrióletalitás mértéke szignifikánsan fokozódott a kezelt csoportokban kivéve a növényvédő szerrel egyedileg kezelt csoportot. A fejlődési rendellenességek előfordulási gyakorisága sporadikus jellegű volt valamennyi kezelt csoportban. Kísérletünkben felhasznált 0,01%-os kadmium-szulfát oldat és DEZORMON 2,4-D 0,5%-os emulziójának egyedi méreghatása toxikus volt a tojásban fejlődő házityúk-embriókra. A kísérleti anyagok együttes alkalmazása során az embriótoxikus dózisu kadmium-szulfát mellett a növényvédelmi gyakorlatban felhasznált DEZORMON gyomirtó szeres kezelés fokozta az embriótoxicitást, a toxikus interakció additív jellegű volt.

Kulcsszavak: 2,4-D, kadmium-szulfát, interakció, ökotoxikológia, házityúk-embrió

Abstract

The aim of this study was to determine the individual and combined toxic effects of DEZORMON herbicide (2,4-D, 600 g/l dimethylamine salt) and cadmium sulphate on the development of chicken embryos. The chicken eggs were dipped in the solution or emulsion of the test materials for 30 minutes before starting of incubation. The applied concentration of cadmium sulphate was 0.01% and of herbicide DEZORMON was 0.5%. The chicken embryos were examined on day 19 by the followings: rate of embryo mortality, body mass, type of developmental anomalies by macroscopic examination. The body mass was evaluated statistically by the one-way ANOVA, the embryo mortality and the developmental anomalies were analysed by Fisher test. Our teratogenicity study revealed that the individual toxic effect of cadmium sulphate and 2,4-D containing herbicide formulation (DEZORMON) were embryotoxic. Developmental abnormalities were observed sporadically either single or concomitant treatment. Based on the results there is a possibly additive toxic interaction between the cadmium sulphate and DEZORMON that can highly reduce the viability of the embryos or can lead to extinction of wild birds.

Keywords: 2,4-D, cadmium sulphate, interaction, ecotoxicology, chicken embryo

Bevezetés

A szintetikus növényvédő szerek az 1950-es években terjedtek el világszerte, és széleskörű, folyamatos alkalmazásuk miatt legtöbbjük mára szinte mindenütt megtalálható a környezetünkben (Köhler és Triebskorn, 2013). A környezetet évszázadok óta károsító ipar mellett az agrokemikáliák felhasználása révén megjelent egy másik szennyezőanyag kibocsátó, a mezőgazdaság is (Bánki, 1976). A vegyszeres növényvédelmi munkák során felhasznált növényvédő szerek a kijuttatás területén, továbbá a kijuttatás területéről elsodródva a nem célszervezeteken is kifejthetik hatásaikat, amelynek következtében a keltetés időszakában a vadon élő madarak tojásaira kerülő permetléből bejutó hatóanyag megzavarhatja az embriók fejlődését (Fejes, 2005). A toxikológia fejlődésének köszönhetően egyre több kutatás, tanulmány látott napvilágot, amelyek a fémek és növényvédő szerek kifejezett toxicitásáról számoltak be. Az eredmények alapján az engedélyező hatóságok számos fémvegyület növényvédelemben való alkalmazását betiltották. Azonban a permanens környezetterhelés miatt az egész bioszféra beszennyeződött. A peszticidek és nehézfémek ökotoxikológiai tesztelése során döntő részben

külön-külön kerülnek tanulmányozásra, ugyanakkor figyelmet kell fordítanunk arra, hogy a vegyi terhelés általában komplex módon jelentkezik, így számolni lehet együttes (interakciós) méreghatással, amelynek következtében a komponensek felerősíthetik vagy gyengíthetik egymás hatását. Az utóbbi időben egyre inkább előtérbe kerül az interakciós hatások tanulmányozása nemcsak az ökotoxikológia területén, hanem minden olyan egyéb területen, amely az egészségvédelem és a kémiai biztonság kérdésével foglalkozik (Oskarsson, 1983; Danielsson és mtsai, 1984; Speijers és Speijers, 2004; Youn-Joo és mtsai, 2004). Vizsgálatunkban egy 2,4-D hatóanyagú herbicid (DEZORMON) és a környezeti fémterhelést modellező kadmium-szulfát egyedi és együttes méreghatását vizsgáltuk bemelegítéssel kezelési módot alkalmazva. A gyakorlatban használatos ökotoxikológiai vizsgálati módszerek elsősorban csak az egyedi méreghatás vizsgálatára szorítkoznak, ezért a növényvédő szerek interakciós hatásaira vonatkozó adatok gazdagíthatják a toxikológiai adatbázist.

Anyag és módszer

A környezeti kadmiumterhelés modellezéséhez az egyedi és együttes kezelések során 0,01%-os koncentrációjú kadmium-szulfát-oldatot (Reanal-Ker Kft., Magyarország) használtunk. A 600 g/l 2,4-D hatóanyagú DEZORMON (Nufarm Hungária Kft., Magyarország) gyomirtó szert, mind az egyedi, mind a kombinációs kezelések során gyakorlati permetlé töménységben (0,5%) alkalmaztuk. A vizsgálatban felhasznált termékeny tyúktojások a Goldavis Kft. (Sármellék, Magyarország) vegyes hasznosítású, Farm fajtájú tenyészetéből (apai és anyai vonal Farm) származtak. A tojások keltetését RAGUS® (Wien, Ausztria) típusú asztali keltetőgépben végeztük. A keltetés ideje alatt gondoskodtunk a megfelelő hőmérsékletről (37-38 °C), a páratartalomról (65-75%) és a tojások naponta történő forgatásáról. A tyúktojásokat (n=40/csoport) a keltetés megkezdése előtt 30 perces időtartamra a vizsgálati anyagokból készült 37 °C-os hőmérsékletű oldatokba és emulziókba, valamint azok kombinációjába helyeztük, majd a folyadék lecsepegtetése után indítottuk a keltetést. A várható kelés előtt 2 nappal, a 19. napon került sor a tojások feldolgozására. A kórbonctani feldolgozás során jegyzőkönyvben rögzítettük az élő embriók testtömegét, az elhalt embriók számát és a makroszkópos magzati deformitásokat. Az élő embriók testtömeg adatainak eloszlását grafikusán Comparison-QuantilePlot-tal ellenőriztük, majd a statisztikai értékelést egytényezős varianciaanalízissel végeztük. Az embriómortalitási adatok és a fejlődési rendellenességek biometriaival értékeléséhez a Fisher-féle egzakt tesztet használtuk. A statisztikai értékelés során a szignifikancia minimumértékének a $p < 0,05$ szintet tekintettük (Baráth és mtsai, 1996).

Eredmények

A madárfiziológiás NaCl oldattal kezelt csoportban az embriók testtömege $21 \pm 1,67$ g volt. A kontroll csoportban kettő embrió pusztult el, így a termékeny tojások számához viszonyítva az elhalt embriók aránya 5,2% volt. Fejlődési rendellenességet mutató embrió nem fordult elő, ami lehetővé tette a csoport viszonyítási alapként való alkalmazását. Az kadmium-szulfát 0,01% koncentrációjú oldatával elvégzett egyedi bemerítéses kezelés eredményeként az embriók testtömeg értéke ($19,79 \pm 1,37$ g) szignifikánsan ($p < 0,05$) kisebb volt a kontroll csoport értékéhez ($21 \pm 1,67$ g) viszonyítva. A 2,4-D hatóanyagú DEZORMON egyedi toxicitásának vizsgálatakor a gyomirtó szert 0,5%-os a növényvédelemben ajánlott gyakorlati permetlé töménységben alkalmazva azt tapasztaltuk, hogy a kezelés hatására a madár-embriók testtömege ($20,4 \pm 1,83$ g) csökkent a kontroll csoport adataihoz viszonyítva ($21 \pm 1,67$ g). A 0,01%-os kadmium-szulfáttal és a DEZORMON 0,5%-os koncentrációjú emulziójával elvégzett együttes kezelés eredményeként szignifikáns mértékben ($p < 0,01$) csökkent az élő embriók testtömege ($19,61 \pm 1,78$ g) a kontroll csoportban mért értékekhez ($21 \pm 1,67$ g) képest. Hasonlóan, csökkenő tendencia volt megfigyelhető a kadmium-szulfát-oldattal és a DEZORMON készítménnyel egyedileg kezelt csoportok testtömeg értékeihez ($19,79 \pm 1,37$ g és $20,4 \pm 1,83$ g) viszonyítva is. Az egyedi méreghatás és az interakciós vizsgálat során tapasztalt embrió mortalitási adatok alapján elmondható, hogy a 0,01%-os koncentrációjú kadmium-szulfáttal egyedileg kezelt csoportban az elpusztult embriók aránya (25%) a kontroll csoportban megfigyelt elhalásokhoz (5,2%) képest szignifikánsan emelkedett. A 2,4-D hatóanyagú DEZORMON gyomirtó szer egyedi toxicitásának vizsgálatakor a kezelés hatására emelkedett az embrió mortalitás mértéke (8,1%) a kontrollhoz képest. A kadmium-szulfát és a DEZORMON herbicid kombinációs kezelésének eredményeként az embrió mortalitás aránya 33,3% volt, amely szignifikáns ($p < 0,01$) mértékűnek bizonyult a kontroll csoporthoz viszonyítva. A 0,01%-os kadmium-szulfáttal egyedileg kezelt csoportban kettő rendellenes fejlődésű embriót (növekedési visszamaradás, láb deformitás) rögzítettünk (2/38). A gyomirtó szerrel egyedileg kezelt csoportban az élő embriók közül egy embrió mutatott makroszkópos fejlődési rendellenességet (1/37), ödéma volt megfigyelhető a hasi részen. A kadmium-szulfát 0,01%-os oldatával és a DEZORMON 0,5%-os koncentrációjú emulziójával együttesen kezelt csoportban kettő élő embriónál (2/30) tapasztaltunk deformitást, a fejlődési rendellenességek típusa növekedési visszamaradás és keresztcsőr voltak.

Megvitatás

A kísérletünkben felhasznált 0,01%-os kadmium-szulfát-oldat egyedi méreghatása embriótoxikus volt a tojásban fejlődő házityúk szervezetre, amely elsősorban az élő embriók kezelés hatására bekövetkezett szignifikáns mértékű testtömeg-csökkenésében és az embrióletalitás növekedésében nyilvánult meg, teratogén hatás azonban nem volt megfigyelhető, mivel fejlődési rendellenességet mutató embrió csak sporadikusan fordult elő. Korábban Szabó és mtsai. (2011) injektálós módszert alkalmazva azt tapasztalták, hogy a 0,01%-os kadmium-szulfáttal elvégzett kezelés eredményeként a házityúk-embriók testtömege szignifikánsan csökkent, az embriómortalitás pedig szignifikánsan fokozódott, a fejlődési rendellenességek előfordulása gyakorisága azonban szignifikánsan nem különbözött a kontrolltól. Kísérletünkben a 2,4-D hatóanyagú DEZORMON herbicid 0,5%-os emulziója kis mértékben volt embriótoxikus, amely a testtömeg-csökkenés fokozódásában és embrióelhalásban növekedésében nyilvánult meg. Fejlődési rendellenességet mutató embrió csak sporadikusan fordult elő, így teratogén hatás nem volt igazolható. Az együttes méreghatás additív jellegű. Más vizsgálatok kimutatták, hogy a hím patkányok reprodukciós képessége csökkent 200 mg/kg 2,4-D-vel történő akut kezelés hatására (Marouani, 2017). A kísérleti anyagok együttes alkalmazása során az embriótoxikus dózisú kadmium-szulfát mellett a növényvédelmi gyakorlatban alkalmazott DEZORMON gyomirtó szeres kezelés szignifikáns mértékben növelte az embriótoxikus hatást. Az interakciós toxikológiai vizsgálatnak az eredményei jelzik a madárembrió fokozott érzékenységét, amely az együttes kezelés hatására felülmúlja az egyedi kezelések toxikus következményeit. Ezek alapján elmondható más szerzők véleményével összhangban (Várnagy, 1996.; Fejes és mtsai., 2002; Várnagy és mtsai., 2004; Keserű és mtsai., 2005), hogy az interakciós madárteratológiai vizsgálatok megfelelő érzékenységgel jelzik a testidegen kémiai anyagok együttes expozíciójának eredményeként módosuló egyedi méreghatásokat. Az általunk házityúkon elvégzett madárteratológiai vizsgálatok eredményei felhasználhatóak más madárfajok mérgezési veszélyének jellemzésére (Fejes és mtsai., 2004). Azonban a vadmadár fajok fokozott érzékenységéből kifolyólag javasoljuk ugyanezen vizsgálatok vadkacsa, fácán vagy fűrtőjásokon történő elvégzését. A vadkacsa tojások méshéjának a tyűktojásokéhoz viszonyított nagyobb fajlagos felülete és pórustérfogata fokozhatja a tojásban fejlődő embriót érő expozíció mértékét (Kertész, 2001). A környezetszennyező nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes hatásainak madárteratológiai vizsgálataiból származó eredmények értékelése nagyban hozzásegíthet ahhoz, hogy a környezeti élőszervezetek védelmét a lehető legmagasabb szinten tudjuk biztosítani.

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

- Bánki L. 1976. Egy peszticid kifejlesztése, mint komplex tudományos feladat. Medicina könyvkiadó, Budapest. 17,18, 27.
- Baráth Cs., Ittész A. és Ugródy Gy. 1996. Biometria. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 37-217.
- Danielsson, B. R. G., Oskarsson, A and Dencker, L. 1984. Placental transfer and fetal distribution of lead in mice after treatment with dithiocarbamates. Arch. Toxicol., 55. 27-33.
- Fejes S., Budai P., Molnár T. és Keserű M. 2002. Teratogenicity test on an insecticide containing dimethoate and on heavy elements (Cu, Cd) in chicken embryos. Georgikon for Agric., 13. 97-107.
- Fejes S., Budai P., Szabó R. és Molnár T. 2004. Eltérő kezelési módok eredményeinek összehasonlítása egy nehézfém és egy peszticid toxikológiai vizsgálatában. Acta Kaposváriensis, 8 (2). 33-40.
- Fejes S. 2005. Egyes nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes méreghatásának vizsgálata madárteratológiai tesztben, Doktori Értekezés, Veszprémi Egyetem, Keszthely. 83-84.
- Kertész V. 2001. Nehézfémek és PAH-vegyületek embrionális fejlődésre gyakorolt hatása madarakon. PhD. értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő. 80.
- Keserű M., Komlósi V., Mink J., Fáncsi T., Szabó R., Juhász É., Tavaszi J. és Várnagy L. 2005. Két herbicid és egy inszekticid méreghatásának vizsgálata madárembriókban. Acta Kaposváriensis, 9. 1. 1-12.
- Köhler, H. R. and Triebskorn, R. 2013. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can wet rack effects to the population level and beyond? Science 341. 759-765.
- Marouani, N., Tebourbi, O., Cherif, D., Hallegue, D., Yacoubi, M.T., Sakly, M., Benkhalifa, M. and Rhouma, K.B. 2017. Effects of oral administration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on reproductive parameters in male Wistar rats. Environmental Science Pollution Research. 24. 519-526. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7656-3>
- Oskarsson, A. 1983. Redistribution and increased brain uptake of lead in rats after treatment with diethyldithiocarbamate. Arch. Toxicol., 6. 279-284.

- Speijers, G. J. A. and Speijers, M. H. M. 2004. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters*, 153. 91-98.
- Szabó R., Budai P., Lehel J. és Kormos É. 2011. Teratogenicity study of some pesticide in chicken embryos. *Comm. Agr. Appl. Biol. Sci. Ghent Univ.*, 69. 4. 803-806.
- Várnagy L. 1996. Növényvédő szerek és a reprodukció kapcsolata. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 51. 421-423.
- Várnagy L., Budai P., Fejes S., Keserű M., Szabó R. és Juhász É. 2004. Egyes növényvédő szer hatóanyagok bomlásdinamikája és toxicitása madárembriókban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 126. 755-760.
- Youn-Joo A., Young-Mi K., Tae-Im K. and Seung-Woo J. 2004. Combined effect of copper, cadmium, and lead upon *Cucumis sativus* growth and bioaccumulation. *Science of The Total Environment*, 326. 1-3. 85-93.