

Klórpirifosz hatóanyagú inszekticid és a réz interakciós madárteratológiai vizsgálata

***Budai Péter^{1*}, Szemerédy Géza¹, Major László¹, Buda István¹, Lehel József² és
Szabó Rita¹***

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

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

**e-mail: budai-p@georgikon.hu*

Összefoglalás

Vizsgálatunk alkalmával tojásban fejlődő házityúk-embriókon tanulmányoztuk a klórpirifosz hatóanyagú Cyren EC rovarölő szer és a réz-szulfát interakciós toxicitását. A keltetés megkezdése előtt elvégzett bemelegítő kezelésekhez a réz-szulfátot 0,01%-os, míg a Cyren EC (480 g/l klórpirifosz) inszekticidet a növényvédelmi gyakorlatban használatos 0,5%-os koncentrációban alkalmaztuk. A kórbonctani feldolgozásra a keltetés 19. napján került sor, amely alkalmával lemértük az élő embriók testtömegét, feljegyeztük az elhalások számát és a makroszkópos fejlődési rendellenességeket. A statisztikai vizsgálat során a testtömeg adatokat egytényezős varianciaanalízissel, az embrióelhalás mértékét és a fejlődési rendellenességek gyakoriságát Fisher-féle egzakt teszttel értékeltük. A kísérleti anyagokkal elvégzett egyedi és együttes kezelések eredményeként, a kezelt csoportokban az élő embriók testtömeg értékei szignifikánsan kisebbek voltak (réz-szulfát: $18,63 \pm 1,99$ g, $p < 0,05$; Cyren EC: $18,42 \pm 1,85$ g, $p < 0,01$; Cyren EC+réz-szulfát: $18,16 \pm 1,62$ g; $p < 0,01$) a kontrollhoz viszonyítva ($20,25 \pm 1,95$ g). Az embriómortalitási adatok alapján megállapítottuk, hogy az embrióelhalás gyakorisága szignifikáns mértékben növekedett a Cyren EC inszekticiddel egyedileg (10/30; $p < 0,001$) kezelt, és a réz-szulfáttal kombinált csoportban (14/26; $p < 0,001$). A makroszkópos fejlődési rendellenességek előfordulási gyakorisága sporadikus jellegű volt valamennyi kezelt csoportban. A kísérletünkben felhasznált 0,01%-os réz-szulfát-oldat és a 0,5%-os Cyren EC rovarölő szer egyedi méreghatása kismértékben embriótoxikus volt a tojásban fejlődő házityúk-embriókra. Teratogén hatás nem volt igazolható.

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

Abstract

The aim of this study was to determine the individual and combined toxic effects of Cyren EC insecticide (chlorpyrifos 480 g/l) and copper sulphate on the development of chicken embryos. The chicken eggs were dipped in the solution or emulsion of the test materials for 30 minutes on the first day of incubation. The applied concentration of copper sulphate was 0.01% and that of insecticide Cyren EC was 0.5%. The chicken embryos were examined on day 19 by the followings: body mass, rate of embryo mortality, 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. The average body weight of the embryos was significantly lower as compared to the control group in all treated groups. The single and simultaneous administration of the Cyren EC increased the mortality of embryos significantly as compared to the control. Developmental abnormalities were sporadically observed due to the single and simultaneous administration. Our teratogenicity study revealed that, the individual toxic effect of copper sulphate and chlorpyrifos containing Cyren EC insecticide formulation were embryotoxic but not teratogenic in chicken.

Keywords: chlorpyrifos, copper sulphate, interaction, ecotoxicology, chicken embryo

Bevezetés

A mezőgazdasági termelésen belül a kémiai növényvédelem tekinthető az egyik leginkább környezetszennyező területnek. A kémiai növényvédelmi munkák során felhasznált növényvédő szerek elsősorban a kijuttatás területén, de onnan távolabbra elsodródva a nem célszervezeteken is kifejthetik hatásait, amelynek következtében a keltetés időszakában a vadon élő madarak tojásaira kerülő permetléből bejutó hatóanyag megzavarhatja az embriók fejlődését (Fejes, 2005). A környezeti rézterhelés forrásai között az ipari szennyezések mellett jelentős szerepet játszik a mezőgazdasági termelés, mivel a rézvegyületek felhasználásra kerülnek mikroelem trágyákban, valamint gombaölő szerek hatóanyagaiként is, amelyek lehetőséget biztosítanak a vadmadarak tojásainak expozíciójára (Jeng és Yang, 1995). Azt is figyelembe kell vennünk a különböző xenobiotikumok toxikológia vizsgálatakor, hogy az egyes készítmények döntő részben külön-külön kerülnek alkalmazásra. Azonban az egyidejűleg jelen lévő vegyi anyagok egymás mérgező hatását befolyásolhatják, és ezáltal jelentősen megváltozik az összességében kifejtett hatás (Várnagy, 1995). A madárteratológiai vizsgálatok során alkalmazott bemerítéses kezelés lehetővé

teszi a madárembrióra gyakorolt indirekt hatások tanulmányozását, és így megfelelően modellezi a környezetben érvényesülő egyedi és interakciós károsító hatásokat (Lutz és Oterag, 1973; Hoffman és Gay, 1981).

Vizsgálatunkban egy klórpirifosz hatóanyagú rovarölő szer (Cyren EC) és a környezeti fémterhelést modellező réz-szulfát egyedi és együttes toxicitását vizsgáltuk bemerítéses kezelési módot alkalmazva, annak igazolása érdekében, hogy a vegyi anyagok természetes körülmények között érvényesülő expozíciója embriótoxikus hatású lehet-e. Az engedélyezési gyakorlatban használatos ökotoxikológiai vizsgálati módszerek elsősorban csak az egyedi méreghatás vizsgálatára szorítkoznak, ezért a növényvédő szerek interakciós hatásaira vonatkozó adatok segítségével alaposabban megismerhetők a környezeti vegyi anyagok okozta expozíciók káros következményei.

Anyag és módszer

A környezeti rézterhelés modellezéséhez az egyedi és együttes kezelések során 0,01%-os koncentrációjú réz-szulfát-oldatot (Reanal-Ker Kft., Magyarország) használtunk. A 480 g/l klórpirifosz hatóanyagú Cyren EC (FMC-Agro Hungary Kft., Magyarország) rovarölő szert, mind az egyedi, mind a kombinációs kezelések során a növényvédelmi gyakorlatban használatos 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 (37,5-38 °C), a páratartalomról (65-75%) és a tojások naponta történő forgatásáról. A termékeny házityúk tojásokat (n=40/csoport) a keltetés megkezdése előtt a vizsgálati anyagokból készült 37 °C-os hőmérsékletű oldatba vagy emulzióba, valamint azok kombinációjába helyeztük 30 perces időtartamra. A kórbonctani feldolgozásra a keltetés 19. napján került sor, amely alkalmával lemértük az élő embriók testtömegét, feljegyeztük az elhalások számát és a makroszkópos fejlődési rendellenességeket. Az élő embriók testtömeg adatainak eloszlását grafikusan Comparison-Quantile Plot-tal ellenőriztük, majd a statisztikai értékelés egytényezős varianciaanalízissel történt. Az embrióelhalási adatok és a fejlődési rendellenességek biometriaai értékeléséhez a Fisher-féle egzakt tesztet alkalmaztuk. A statisztikai értékelés során a szignifikancia minimumértékének a $p < 0,05$ szintet tekintettük.

Eredmények

A 0,01%-os koncentrációjú réz-szulfát-oldattal elvégzett egyedi bemeztéses kezelés eredményeként az élő embriók testtömeg értékei ($18,63 \pm 1,99$ g) szignifikánsan ($p < 0,05$) kisebbek voltak a kontroll értékekhez ($20,25 \pm 1,95$ g) viszonyítva. A 0,5%-os Cyren EC rovarölő szer egyedi méreghatásának vizsgálatakor a bemeztéses kezelés hatására a csoport élő embrióinak testtömege ($18,42 \pm 1,85$ g) szignifikánsan ($p < 0,01$) kisebb volt a kontroll csoportban mért értékekhez ($20,25 \pm 1,95$ g) képest. A réz-szulfáttal és a Cyren EC inszekticiddel elvégzett kombinációs kezelés eredményeként szignifikáns ($p < 0,01$) mértékben csökkentek az élő embriók testtömegei ($18,16 \pm 1,62$ g) a kontroll csoport adataihoz ($20,25 \pm 1,95$ g) viszonyítva. Hasonló csökkenő tendencia volt megfigyelhető a réz-szulfát-oldattal és a Cyren EC rovarölő szerrel egyedileg kezelt csoportok testtömeg értékeihez ($18,63 \pm 1,99$ g, $18,42 \pm 1,85$ g) viszonyítva. Az eltérések azonban nem voltak szignifikáns mértékűek.

A 19. napi kórbonctani vizsgálat során tapasztalt embrió mortalitási adatok alapján megállapítottuk, hogy az embrióelhalás szignifikáns mértékben növekedett a Cyren EC inszekticiddel egyedileg (10/30; $p < 0,001$) kezelt, és a réz-szulfáttal kombinált csoportban (14/26; $p < 0,001$).

A kontroll csoportban nem fordult elő fejlődési rendellenességet mutató embrió. A 0,01%-os réz-szulfát-oldattal egyedileg kezelt csoportban egy rendellenes fejlődésű embriót (növekedési visszamaradás) figyeltünk meg (1/36). A Cyren EC inszekticiddel egyedileg kezelt csoportban az élő embriók közül egy embrió mutatott makroszkópos fejlődési rendellenességet (1/30), amelynek típusa görbült láb volt. A réz-szulfát 0,01%-os oldatával és a Cyren EC 0,5%-os koncentrációjú emulziójával együttesen kezelt csoportban két élő embriónál (2/26) detektáltunk fejlődési rendellenességet, amelyek típusa növekedési visszamaradás és görbült láb volt.

Megvitatás

A kísérletünkben felhasznált 0,01%-os réz-szulfát-oldat egyedi méreghatása embriótoxicus volt a tojásban fejlődő házityúk szervezetre, amely elsősorban az élő embriók kezelés hatására bekövetkezett testtömeg-csökkenésében nyilvánult meg, teratogén hatás azonban nem volt megfigyelhető, mivel fejlődési rendellenességet mutató embrió csak sporadikusan fordult elő.

Szabó és mtsai (2011) hasonló eredményekről számoltak be az általuk elvégzett madárteratológiai kísérlet kapcsán. A 0,01%-os réz-szulfáttal kezelt házityúk-embriók

testtömege szignifikánsan csökkent, a fejlődési rendellenességek előfordulási gyakoriságában tapasztalt eltérés azonban nem volt szignifikáns mértékű.

Ferm és mtsa (1974) kísérleti eredményeik alapján megállapították, hogy a réz-szulfát nagy dózisban fokozza a méhen belüli elhalásokat és a fejlődési rendellenességet mutató embriók arányát, a magzati deformitások közül a szívrendellenességek tekinthetők a rézvegyületek specifikus mérgező hatásának.

Kísérletünkben a klórpirifosz hatóanyagú CYREN EC inszekticid 0,5%-os emulziója embriótoxikusnak bizonyult, amely a szignifikáns mértékű testtömeg-csökkenésben és embrióelhalásban nyilvánult meg. Fejlődési rendellenességet mutató embrió csak sporadikusan fordult elő, így teratogén hatás nem volt igazolható.

Farag és mtsai (2003) teratológiai vizsgálatukban megállapították, hogy a klórpirifosz Fischer 344 patkány törzsen az anyai szervezetre toxikus legmagasabb dózisban (25 mg/ttkg) csökkentette a magzatok testtömegét és életképességét, növelte a magzati elhalásokat és a fejlődési rendellenességek gyakoriságát. A klórpirifosz az anyai toxicitást mutató 25 mg/ttkg dózisban főtotoxikus és teratogén.

A kísérleti anyagok együttes alkalmazása során az önmagában kismértékben embriótoxikus rézterhelés mellett a növényvédelmi gyakorlatban alkalmazott Cyren EC inszekticides kezelés eredményeként additív jellegű interakció volt megfigyelhető, amely elsősorban az embrióelhalás gyakoriságának fokozódásában nyilvánult meg. Az általunk házityúkon elvégzett madárteratológiai vizsgálat eredményei felhasználhatóak a környezeti kockázatbecslés alkalmával a vadmadarak mérgezési veszélyének jellemzésére. Azonban a madárfajok között megnyilvánuló érzékenységbeli különbségekből adódóan javasoljuk ugyanezen vizsgálatok vadkacsa vagy fácán tojásokon történő elvégzését. A vadkacsa tojások méshéjának a tyúktojásához 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

- Farag A. T., El Okazy A.M. and El-Aswed A. F. 2003. Developmental toxicity study of chlorpyrifos in rats. *Reprod. Toxicol.*, 17. 2. 203-208.
- Fejes S. 2005. Egyes nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes méreg hatásának vizsgálata madárteratológiai tesztben. PhD. értekezés. Veszprémi Egyetem, Keszthely. 83-84.
- Ferm V. H. and Hanlon D. P. 1974. Toxicity of copper salts in hamster embryonic development. *Biology of Reproduction*, 11. 97-101.
- Hoffmann D. J. and Gay M. L. 1981. Embriotoxic effect of benzo(a)pyrene, chrysene and 7,12-dimethylbenz(a) anthrance in petroleum hydrocarbonmixtures in mallard ducks. *J. Toxicol. Environ. Hlth.*, 7. 777-787.
- Jeng S. L. and Yang C. P. 1995. Determination of lead, cadmium, mercury and copper concentrations in duck eggs in Taiwan. *Poult. Sci.*, 74. 1. 187-193.
- Kertész V. 2001. Nehézfémek és PAH-vegyületek embrionális fejlődésre gyakorolt hatása madarakon. PhD. értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő. 80.
- Lutz H. and Oterag Y. 1973. Pesticides teratogenese et surric chez les oiseaux. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, 56. 65-68.
- 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. 1995. Teratogenicity testing of pesticides on bird fetuses. *Hung. Agr. Res.*, 2. 30-33.