

NÖVÉNYVÉDŐ SZEREK ÖKOTOXIKOLÓGIAI VIZSGÁLATA HAZAI KÉTÉLTŰEKEN

Ujhegyi Nikolett¹, Mikó Zsanett¹, Hettyey Attila¹ és Bókony Veronika^{1,2}

¹Lendület Evolúciós Ökológiai Kutatócsoport, Növényvédelmi Intézet, Agrártudományi Kutatóközpont, Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

²Eötvös Loránd Tudományegyetem, Állattrendszertani és Ökológiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C

*A biztonságos és fenntartható mezőgazdaság egyik alappillére a növényvédő szerek használatával kapcsolatos kockázatok csökkentése. Mivel a peszticid maradványok bekerülhetnek a természetes vizekbe, fontos felmérni, milyen veszélyt jelenthetnek a vízi élőlényekre, melyek között kiemelten veszélyeztetettek a kétéltűek. Kutatócsoportunk kisméretű tavak víz- és üledékmintáit vizsgálva azt találta, hogy a kétéltűek lárvafejlődési időszakában viszonylag kevés peszticid vegyületet tartalmaztak, melyek zömmel a már betiltott, perzisztens hatóanyagok maradványai voltak. Emellett az engedélyezett növényvédő szerek közül számos hatóanyag ökotoxikológiai hatásait is vizsgáltuk olyan kísérletekben, melyek során barna varangy (*Bufo bufo*) és erdei béka (*Rana dalmatina*) ebihalakat a természetes vizekben előforduló peszticid koncentrációk jelenlétében neveltük. Nem tapasztaltunk fokozott pusztulást a környezetileg releváns koncentrációknak kitett ebihalaknál sem két gyomirtó (glifozát, terbutilazin), sem három rovarölő (deltametrin, etofenprox, klórpirifosz) hatóanyag jelenlétében. Ugyanakkor a Glyphogan Classic gyomirtó készítmény 2–4 mg/l-es glifozát koncentrációval, amely a természetes vizekben mért legmagasabb értékek tartományába esik, jelentősen megnövelte az ebihalak halálozási arányát. Eredményeink szerint ezt a hatást elsősorban a fejlődésük kezdetén álló ebihalak fokozott érzékenysége, valamint a glifozát alapú készítmények nagy részében található adalékanyagok (polietoxilált faggyúaminok) toxicitása okozza. A vizsgált peszticidek egy részénél szubletális hatásokat is megfigyeltünk: lelassult fejlődés és csökkent testtömeg is jelentkeztek. Ivararány-eltolódást, ami a populációkat jelentősen veszélyeztető hatása lehet a peszticideknek, egyik vizsgált vegyület esetében sem találtunk. Összességében eredményeink arra utalnak, hogy a modern növényvédő szerek visszafogott és körültekintő használatával minimalizálható az állóvizek és a bennük élő kétéltűek károsításának kockázata.*

Kulcsszavak: fenntartható mezőgazdálkodás, kétéltűek, ivarváltás, terbutilazin, glifozát, klórpirifosz, etofenprox, deltametrin

A Lendület Evolúciós Ökológiai Kutatócsoport 2012-ben alakult a Növényvédelmi Intézetben. Kutatásainknak kezdettől fogva hangsúlyos irányvonalát képezik azok a vizsgálatok, amelyekben a növényvédő szerek környezeti kockázatait tanulmányozzuk vadon élő állatokra gyakorolt hatásaik elemzésével. E kockázatok minimumra szorítása a biztonságos növényvédelem és a fenntartható mezőgazdaság egyik sarokköve. Ezeket a kockázatokat olyan

ökotoxikológiai vizsgálatokkal törekszünk felmérni, amelyek a természetes vizekbe kerülő peszticid maradványok hatásait modellezik. Elsősorban kétéltűekkel foglalkozunk, melyek minden hazai fajta természetvédelmi oltalom alatt áll. Ezek az állatok áteresztő bőruk, valamint vízi és szárazföldi életszakaszt egyaránt tartalmazó életciklusuk miatt kiváló indikátor szervezetek az ökotoxikológiai vizsgálatokhoz. Emellett világszerte fogynak a kétéltűek

állományai, így védelmük érdekében fontos vizsgálni érzékenységüket a kémiai környezet-szennyezésre.

Bár a nagyobb természetes vizeket rendszeresen vizsgálják a peszticid szennyeződések szempontjából, a hazai kétéltűek egyedei kis pocsolókba, csatornába, időszakos tavacskába, holtágakba, kerti és horgásztavakba is lerakják petéiket és ezek a kisebb víztestek általában kimaradnak a vízminőséget ellenőrző vizsgálatokból. Kutatócsoportunk 12 kisméretű (legfeljebb néhány hektáros), zömmel Pest megyei tóból gyűjtött víz- és üledékmintákat, melyek kémiai elemzéséből kiderült, hogy ezek az élőhelyek viszonylag kevés peszticidet és peszticidszármazékot tartalmaznak a kétéltűek lárvafejlődési időszakában (Bókony és mtsai 2018). Az engedélyezett hatóanyagok közül a terbutilazint egy tóban mutattuk ki, míg a glifozát mindegyik tóban jelen volt a 2017-es felmérés során. Ugyanakkor a korábban már betiltott, lassan lebomló, azaz perzisztens hatóanyagok közül többet is észleltünk mind a tavak vizeiben, mind azok üledékében: a terbutrint, a dikofolt, a dieldrint, az aldrint, valamint a DDT bomlástermékeit. Leginkább azokban a tavakban fordultak elő peszticid maradványok, amelyek mezőgazdasági területekhez közel találhatóak, átlagosan $6,9 \mu\text{g/l}$ (víz) – $15,5 \mu\text{g/kg}$ (üledék) koncentrációban (Bókony és mtsai 2018).

Letális hatások

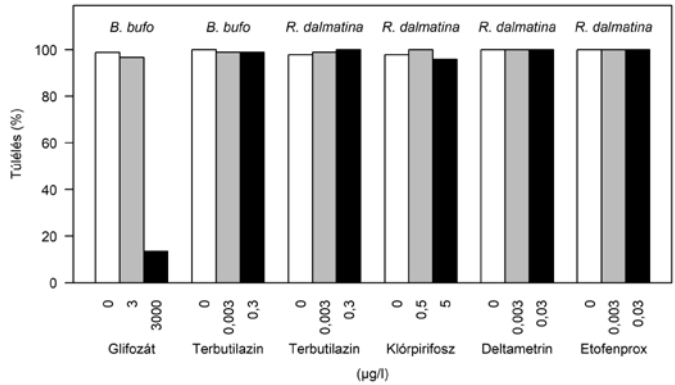
Laboratóriumban elvégzett kísérleteinkben (1. ábra) két gyomirtó szer, a glifozát és a terbutilazin, valamint három rovarölő szer hatóanyag, a deltametrin, az etofenprox és a klórpirifosz hatását vizsgáltuk ebihalak túlélésére. Minden esetben ökológiailag releváns koncentrációk hatásait vizsgáltuk, tehát az állatokat olyan vízben neveltük, amelyben az adott vegyületek hasonló mennyiségben voltak jelen, mint a természetes felszíni vizekben. Általában két kezelést alkalmaztunk vegyületenként: az egyik a természetes vizekben mért koncentrációk átlagához vagy mediánjához esett közel, a másik a természetes vizekben mért legmagasabb koncentrációk tartományában volt. A glifozát kivételével a vizsgált hatóanyagok egyike sem



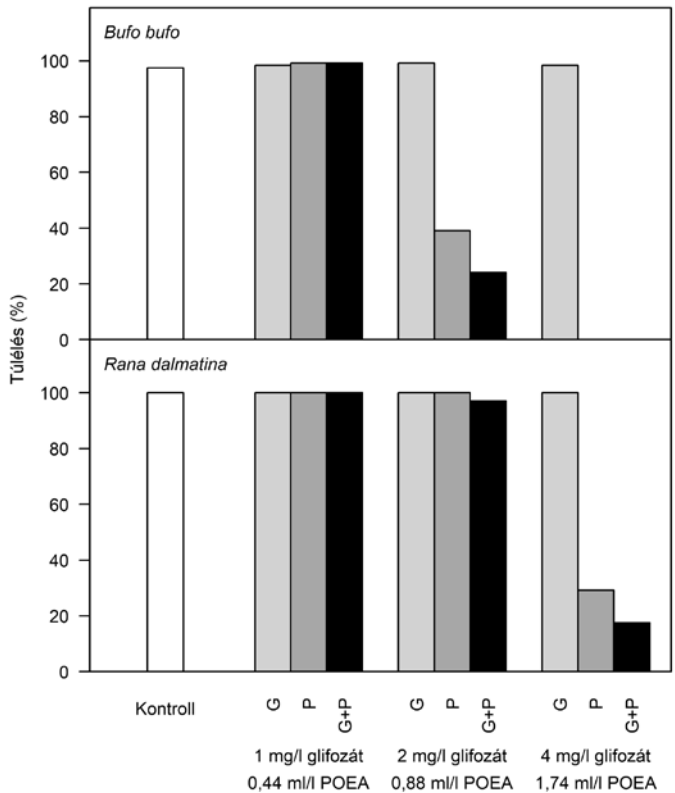
1. ábra. Laboratóriumi ökotoxikológiai kísérleteink jellemző elrendezése, melyben az ebihalakat egyesével neveljük növényvédő szerrel kezelt vízben. Fotó: Kalina Csenge

növelte az ebihalak mortalitását még akkor sem, amikor a teljes lárvafejlődési időszak során alkalmaztuk a kezelést (2. ábra). A hazai tavakban jellemző, néhány $\mu\text{g/l}$ -es glifozát koncentrációban (Bókony és mtsai 2018) a Glyphogan Classic gyomirtó készítmény sem okozott megemelkedett mortalitást (2. ábra). Azonban ennél jelentősen magasabb, néhány mg/l -es koncentrációban is mértek glifozátot természetes vizekben (Battaglin és mtsai 2009; Thompson és mtsai 2004), és vizsgálataink szerint ebben a koncentráció tartományban a Glyphogan Classic már nagymértékű pusztulást okozhat az ebihalaknál (Mikó és mtsai 2017a, 2015; Ujhegyi és Bókony 2020), különösen a korai lárvastádiumokban (Mikó és mtsai 2017b). Itt fontos kiemelnünk, hogy noha a glifozát, mint hatóanyag önmagában viszonylag kevésbé mérgező az állatokra, a glifozát alapú készítmények jelentős része (köztük a Glyphogan Classic is) tartalmaz adalékanyagként polietoxilált fattyúaminokat (POEA), amelyekről viszont

számos faj esetében mutattak ki erős toxicitást (Brausch és mtsai 2007; Brausch és Smith 2007; Folmar és mtsai 1979; Frontera és mtsai 2011; Moore és mtsai 2012; Tsui és Chu 2003). Kutatócsoportunk ebihalakkal végzett kísérletei is megerősítették, hogy a glifozát alapú készítmények toxikus hatásai nagyrészt a POEA-nak tudhatók be (Mikó 2019). A 2016-ban végzett akut toxicitás tesztek során az ebihalak vizében vagy csak a glifozát hatóanyag, vagy csak a POEA adalékanyag, vagy mindkettő jelen volt olyan arányban, ami a Glyphogan Classic összetételének felel meg. Míg a glifozát önmagában még a legmagasabb, 4 mg/l-es koncentrációban sem csökkentette a túlélést, a POEA jelenléte koncentrációtól és fajtól függően jelentős, akár 100%-os pusztuláshoz vezetett (3. ábra). A legmagasabb letalitást akkor tapasztaltuk, amikor mindkét vegyület jelen volt a vízben (3. ábra). Ezek az eredmények alátámasztják az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (European Food Safety Authority, EFSA) megállapítását, miszerint a POEA jelentősen növelheti a glifozát hatóanyagú készítmények alkalmazásának egészségügyi kockázatait. Ennek megfelelően 2016. november 30-án a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) az Európai Bizottság 2016/1313 végrehajtási rendeletére hivatkozva visszavonta a POEA-t tartalmazó glifozát készítmények engedélyét. Magát a glifozátot azonban, megfelelő helyettesítő hatóanyag híján, nem tiltották be, 2017. november 27-én újabb



2. ábra. Barna varangy (*Bufo bufo*) és erdei béka (*Rana dalmatina*) ebihalak túlélése átalakulásig a természetes vizekben előforduló peszticid hatóanyag koncentrációk mellett. A glifozát hatóanyagot a kísérleti alanyok Glyphogan Classic készítmény formájában kapták. Az ábra Ujhegyri és Bókony (2020), Bókony és mtsai (2020), valamint eddig még nem közölt adataink alapján készült.



3. ábra. Barna varangy (*Bufo bufo*) és erdei béka (*Rana dalmatina*) ebihalak túlélése 96 óra alatt glifozát (G) és/vagy POEA (P) különböző koncentrációi mellett. Az ábra Mikó (2019) alapján készült.

öt évvel meghosszabbították a glifozát tartalmú gyomirtók Európai Unión belüli használati engedélyét (Európai Bizottság 2017/2324 végrehajtási rendelet). Noha a peszticidek hatóanyagainak engedélyezési eljárása során a legtöbb országban egészségügyi kockázatértékelést végeznek, ez önmagában sok esetben nem ad elegendő információt a készítmények toxicitásáról, különösen mivel az adalékanyagok toxicitását továbbra sem kötelező bevizsgáltatni, és mert a toxikológiai tesztek csak néhány élőlénycsoporton végzik el. Ahogy a fenti kísérletünk eredményei is mutatják, fontos lenne az adalékanyagok minél szélesebb körű, kétél-tűket is magába foglaló vizsgálata.

Szubletális hatások

A mortalitást közvetlenül nem okozó peszticid koncentrációknak is lehetnek káros ökológiai hatásai, amennyiben a nem-célszervezetek viselkedését, növekedését, vagy fejlődését olyan módon befolyásolják, ami végső soron hosszú távú túlélési esélyüket és szaporodási sikerüket csökkenti. Ilyen szubletális hatások közül többfélét is észleltünk az ebihalakon kísérleteinkben. A Glyphogan Classic (2–6,5 mg/l glifozát) erdei béka ebihalaknál laboratóriumi környezetben csökkentette az átalakuláskori testtömeget és növelte az átalakulásig eltelt időt, míg kültéren elhelyezett mezokozmoszokban (természetes ökoszisztémát modellező mesterséges kisvizekben) növelte az átalakuláskori testtömeget és csökkentette az átalakulásig eltelt időt (Mikó és mtsai 2015). A barna varangy esetében a fiatalabb ebihalak érzékenyebbek voltak a Glyphogan Classic-ra (2–4 mg/l glifozát), ami nemcsak a túlélés-csökkenésben, hanem a növekedés lassulásában is megmutatkozott: minél később találtakoztak először az ebihalak a gyomirtó szerrel, az annál kevésbé hatott rájuk. Továbbá azok a varangy ebihalak, amelyek hosszan ki voltak téve a gyomirtónak, lassabban fejlődtek, mint azok, amelyek csak a fejlődésük kezdetén lettek kezelve (Mikó és mtsai 2017b, 2017a). Érdekes módon a Glyphogan Classic hatására a varangy ebihalak több bufadienolid mérget termeltek

(Bókony és mtsai 2017), ami akár előnyös is lehet, hiszen ezek a mérgeanyagok ragadozók és kórokozók ellen is hatékony védelmet nyújthatnak a varangyok számára.

A terbutilazinnak egy hazai tóban mért koncentrációja (0,3 µg/l) laboratóriumban nevelkedett erdei béka és barna varangy ebihalak fejlődési idejét és az átalakulás után két hónappal mért testtömegét nem befolyásolta (Bókony és mtsai 2020). Erdei béka ebihalaknál azonban azt tapasztaltuk, hogy az aktivitásuk lecsökkent a terbutilazin kezelés hatására, és az átalakulás után kevesebb zsírraktárak voltak, mint a tiszta vízben nevelkedett társaiknak (Bókony és mtsai 2020). Ezek a hatások a természetben károsan befolyásolhatják az egyedek túlélését. Természetes élőhelyeken a táplálék általában korlátozott mennyiségben érhető csak el, és ilyen környezetben a kevésbé aktív egyedek kevesebb táplálékhoz jutva lemaradhatnak a fejlődésben és növekedésben, ami csökkenti a későbbi túlélési esélyeiket: a megfelelő zsírmennyiség elraktározása nélkülözhetetlen az első téli hibernáció túléléséhez. A természetes vizekben gyakrabban előforduló, alacsonyabb koncentrációt (3 ng/l) vizsgálva azonban a terbutilazinnak nem volt megfigyelhető negatív szubletális hatása (Bókony és mtsai 2020).

Hasonló szubletális hatásokat tapasztaltunk a klórpirifosz esetében is: a magasabb, 5 µg/l-es koncentráció csökkentette az erdei békák átalakuláskori testtömegét, míg az alacsonyabb, 0,5 µg/l-es koncentráció növelte az átalakulás kezdetétől annak befejezéséig szükséges időt. Az átalakulás alatt az állatok különösen sérülékenyek, mivel számos szervük ilyenkor újrászerveződik, hogy a vízi, növényevő életmód helyett a szárazföldi, ragadozó életmódot lehetővé tegye, és szájszervük átalakulása miatt ez idő alatt táplálkozni sem tudnak. Korábbi vizsgálatok szerint a klórpirifosz befolyásolhatja az állatok szaglását is, ezáltal a ragadozók felismerését és az előlük való elmenekülést is akadályozhatja (Maryoung és mtsai 2015; Sandahl és mtsai 2004; Tilton és mtsai 2011). Vizsgálatainkban azonban az erdei béka ebihalak ragadozó-elkerülési viselkedését a két klórpirifosz koncentráció egyike sem változtatta meg jelen-

tősen, függetlenül attól, hogy a kezelés 3 napig vagy 3 hétig tartott (Mikó és mtsai készülében).

Ivari hatások

Míg az emlősök és madarak embrióit az anyaméh vagy a szülők által melegen tartott, meszes héjú tojás védi, a kétéltűek és a többi változó testhőmérsékletű állat utódai általában a környezeti körülményeknek közvetlenül kitéve fejlődnek. Az ilyen fajknál a környezeti stresszhatások, köztük a vizeket szennyező vegyszerek is, olyan folyamatokat indíthatnak el az embriók vagy lárvák hormonháztartásában, aminek következtében az ivarszervek fejlődése zavart szenved. Kialakulhatnak ún. interszex egyedek, amelyekben mind női, mind hímivarú szövetek egyszerre vannak jelen, de akár ivarváltás is történhet. Ivarváltás esetén az egyed fenotípusos ivara (tehát hogy herékkel vagy petefészkekkel, és azoknak megfelelő másodlagos nemi bélyegekkel rendelkezik-e) eltér a genetikailag meghatározott ivarától. Az erdei békákra például az emberhez hasonlóan XX/XY kromoszóma rendszer jellemző: XX genotípus esetén nőstény, XY esetén hím fejlődik ki. Ha azonban környezeti behatásokra ivarváltáson esik át az egyed, akkor XX hímek (maszkulinizáció)

vagy XY nőstények (feminizáció) jöhetnek létre. Az ivart váltott állatok szaporodási sikerességéről, felnőttkori túléléséről még nagyon keveset tudunk, az azonban bizonyos, hogy az ivarváltás miatt a természetes populációk ivararánya kiegyensúlyozatlanná válhat, ami hosszabb távon az adott populáció kihalását is okozhatja. Ezért a peszticid-ökotoxikológiai vizsgálatokban is fontos vizsgálni az ivararány változásait és az ivarváltást, mint lehetséges szubletális hatásokat. A korábbi vizsgálatokban szinte kizárólag az ivararányok méréséből próbálták az ivarváltásra következtetni, mert az ivarváltás detektálásának jelentős nehézsége, hogy a genetikai ivar megállapításához minden fajra vagy fajcsoportra specifikus molekuláris módszereket kell kidolgozni. Mivel azonban az ivararány eltolódhat nemcsak ivarváltás, hanem az egyik ivar nagyobb mértékű mortalitása miatt is, ezért a környezeti kockázatok és azok mechanizmusainak megértéséhez szükség lenne minél több faj esetében vizsgálni a növényvédőszer ivarváltásra gyakorolt hatásait is.

Kutatócsoportunk fent ismertetett kísérleteiben a terbutilazin (Bókony és mtsai 2020) és a klórpírifosz nem okozott jelentős ivararány-eltolódást (1. táblázat). Erdei békákra kifejlesztett genetikai ivarmeghatározási

1. táblázat

A teljes lárvafejlődés időtartama alatt peszticid jelenlétében nevelt barna varangyok (*Bufo bufo*) és erdei békák (*Rana dalmatina*) ivararánya az ivarszervek teljes kialakulása után. A táblázat Ujhegyi és Bókony (2020), Bókony és mtsai (2020), valamint eddig még nem közölt adataink alapján készült.

Faj	Hatóanyag	Koncentráció (µg/l)	Hímek száma	Nőstények száma
<i>B. bufo</i>	Glifozát [†]	0	46	36
		3	39	35
		3000	4	7
<i>B. bufo</i>	Terbutilazin	0	45	47
		0.003	41	48
		0.3	50	42
<i>R. dalmatina</i>	Terbutilazin	0	37	45
		0.003	50	38
		0.3	38	50
<i>R. dalmatina</i>	Klórpírifosz	0	24	23
		0.5	26	21
		5	21	20

[†]POEA-t tartalmazó Glyphogan Classic készítményben.

módszerünk (Nemesházi és mtsai 2020) alátámasztotta, hogy a két hatóanyag egyike sem okozott ivarváltást ebben a fajban. Ezek az eredmények meglepőek lehetnek amiatt, hogy mind a klórpirifoszról, mind a terbutilazinnal rokon atrazinról több korábbi vizsgálat azt mutatta, hogy nőstény-túlsúlyos ivararányt, illetve interszex egyedek (petesejteteket is tartalmazó herék) kialakulását okozza – azonban ezek a korábbi vizsgálatok jellemzően nem ökológiailag releváns koncentrációkat használtak (Bernabò és mtsai 2011; Rohr és McCoy 2010). Hasonló feminizáló hatásra utal a szakirodalom a glifozát esetében, amit részben alá is támasztottak a barna varangyokkal végzett kísérletünk eredményei (Ujhegyi és Bókonyi 2020). A magasabb koncentrációjú Glyphogan Classic kezelést (3 mg/l) túlélő 11 állatból majdnem kétszer annyi egyednek volt petefészke, mint ahánynak heréi (1. táblázat), ami utalhat ivarváltásra, vagy a hímek nagyobb arányú mortalitására. Az alacsonyabb koncentrációval (3 µg/l) kezelt állatok ivararánya nem tolódott el érdemben az 1:1-től (1. táblázat), ugyanakkor 3 állatnál találtunk interszex ivarszerveket (Ujhegyi és Bókonyi 2020). Jelenleg dolgozunk a barna varangy genetikai ivarmeghatározásának módszerén, hogy ennél a fajnál is diagnosztizálhassuk az ivarváltásokat, és további peszticid-ökotoxikológiai vizsgálatokkal segíthessük a természetben előforduló növényvédő szermaradványok kockázatainak minél alaposabb felmérését.

Vizsgálataink egyik legfontosabb üzenete, hogy bár a növényvédő szereknek vannak mind letális, mind szubletális káros hatásai a vadon élő állatokra, eredményeink szerint ezek nem jellemzőek a természetes vizekben gyakran előforduló koncentrációk mellett, és inkább csak a legrosszabb esetekben, ritkán előforduló legmagasabb koncentrációk hatására jelentkeznek. Ezért különösen fontos, hogy ezeket a

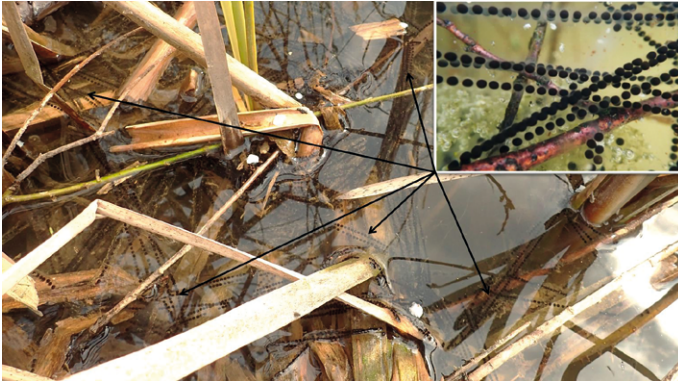
toxikus mértékű szennyezéseket elkerüljük, így az alkalmazási és biztonsági előírások betartásával, csak a szükséges növényvédő szer adag használatával a vízi élővilág megóvható lehet a peszticidek káros hatásaitól. Kisebbségi léptékű alkalmazás esetén érdemes figyelni arra, hogy a kezelendő területeken vannak-e kétélűeknek otthont adó víztestek, és azokban éppen fejlődő peték vagy fokozottan érzékeny, fiatal ebihalak, melyek könnyen felismerhetőek (4–6. ábra). Védelmükkel az ökoszisztémák fontos láncszemeit óvjuk, amelyek szárazföldi életfázisukban hatékony „biológiai rovarirtóként” is hasznunkra lehetnek.



4. ábra: Az erdei béka a képen látható módon a vízfelszínhez közeli növényi részekhez rögzíti petecsomóját. A peterakás február végétől április közepéig tart, az ebihalak jellemzően május végéig vagy június közepéig fejlődnek a vízben. A kép bal felső sarkában egy petecsomó vízalatti felvétele látható, a fekete nyilak a petecsomókat jelölik, melyeket fentről láthatunk. Fotók: Ujhegyi Nikolett

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a Lendület Evolúciós Ökológiai Kutatócsoport jelenlegi és volt munkatársainak és hallgatóinak a terepi és laboratóriumi munkák során nyújtott segítségét. A kutatások a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával az NKFI Alapból (K-115402, K-135016, K-124375, PD-134241) valósultak meg. A szerzők (B.V. és H.A.) munkáját a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja és az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-5 Új Nemzeti Kiválóság Programja támogatta.



5. ábra: A barna varangyok gyakran nagy tömegekben, többnyire március végén vagy április első felében rakják a vízbe petezsinóraikat, a vízfelszínhez közeli növényi részekhez rögzítve. A kép jobb felső sarkában petezsinórok vízalatti részlete látható, a nyilak néhány petezsinórt mutatnak, melyet fentről láthatunk. Fotók: Ujhegyi Nikolett



6. ábra: A barna varangy ebihalak gyakran nagy egyedszámú rajokba tömörülve, fekete „felhőként” láthatóak a vízben, jellemzően április végétől június végéig. Fotók: Tóth Zsófia és Ujhegyi Nikolett

IRODALOM

- Battaglin, W.A., Rice, K.C., Focazio, M.J., Salmons, S. and Barry, R.X.** (2009): The occurrence of glyphosate, atrazine, and other pesticides in vernal pools and adjacent streams in Washington, DC, Maryland, Iowa, and Wyoming, 2005–2006. *Environmental Monitoring and Assessment*, 155: 281–307.
- Bernabò, I., Sperone, E., Tripepi, S. and Brunelli, E.** (2011): Toxicity of chlorpyrifos to larval *Rana dalmatina*: Acute and chronic effects on survival, development, growth and gill apparatus. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 61: 704–718.
- Bókony, V., Mikó, Zs., Móricz, Á.M., Krüzselyi, D. and Hettyey, A.** (2017): Chronic exposure to a glyphosate-based herbicide makes toad larvae more toxic. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284: 1–7.
- Bókony, V., Üveges, B., Ujhegyi, N., Verebélyi, V., Nemesházi, E., Csikvári, O. and Hettyey, A.** (2018): Endocrine disruptors in breeding ponds and reproductive health of toads in agricultural, urban and natural landscapes. *Science of the Total Environment*, 634: 1335–1345.
- Bókony, V., Verebélyi, V., Ujhegyi, N., Mikó, Zs., Nemesházi, E., Szederkényi, M., Orf, S., Vitányi, E. and Móricz, Á.M.** (2020): Effects of two little-studied environmental pollutants on early development in anurans. *Environmental Pollution*, 260: 114078.
- Brausch, J.M., Beall, B. and Smith, P.N.** (2007): Acute and sub-lethal toxicity of three POEA surfactant formulations to *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78: 510–514.
- Brausch, J.M. and Smith, P.N.** (2007): Toxicity of three polyethoxylated tallowamine surfactant formulations to laboratory and field collected fairy shrimp, *Thamnocephalus platyurus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 52: 217–221.
- Folmar, L.C., Sanders, H.O. and Julin, A.M.** (1979): Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 8: 269–278.
- Frontera, J.L., Vatnick, I., Chaulet, A. and Rodríguez, E.M.** (2011): Effects of glyphosate and polyoxyethyleneamine on growth and energetic reserves in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 61: 590–598.
- Maryoung, L.A., Blunt, B., Tierney, K.B. and Schlenk, D.** (2015): Sublethal toxicity of chlorpyrifos to salmonid olfaction after hypersaline acclimation. *Aquatic Toxicology*, 161: 94–101.
- Mikó Zs.** (2019): Egy glifozátalapú gyomirtó ökotoxikológiai hatásai kétéltúlárakra és ragadozóikra. Doktori értekezés.
- Mikó, Zs., Ujszegi, J., Gál, Z. and Hettyey, A.** (2017a): Standardize or Diversify Experimental Conditions

in Ecotoxicology? A Case Study on Herbicide Toxicity to Larvae of Two Anuran Amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 73: 562–569.

- Mikó, Zs., Ujszegi, J., Gál, Z., Imrei, Z. and Hettyey, A.** (2015): Choice of experimental venue matters in ecotoxicology studies: Comparison of a laboratory-based and an outdoor mesocosm experiment. *Aquatic Toxicology*, 167: 20–30.
- Mikó, Zs., Ujszegi, J. and Hettyey, A.** (2017b): Age-dependent changes in sensitivity to a pesticide in tadpoles of the common toad (*Bufo bufo*). *Aquatic Toxicology*, 187: 48–54.
- Moore, L.J., Fuentes, L., Rodgers, J.H., Bowerman, W.W., Yarrow, G.K., Chao, W.Y. and Bridges, W.C.** (2012): Relative toxicity of the components of the original formulation of Roundup® to five North American anurans. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78: 128–133.
- Nemesházi, E., Gál, Z., Ujhegyi, N., Verebélyi, V., Mikó, Zs., Úveges, B., Lefler, K.K., Jeffries, D.L., Hoffmann, O.I. and Bókony, V.** (2020): Novel genetic sex markers reveal high frequency of sex reversal in wild populations of the agile frog (*Rana dalmatina*) associated with anthropogenic land use. *Molecular Ecology*, 29: 3607–3621.
- Rohr, J.R. and McCoy, K.A.** (2010): A qualitative meta-analysis reveals consistent effects of atrazine on freshwater fish and amphibians. *Environmental Health Perspectives*, 118: 20–32.
- Sandahl, J.F., Baldwin, D.H., Jenkins, J.J. and Scholz, N.L.** (2004): Odor-evoked field potentials as indicators of sublethal neurotoxicity in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to copper, chlorpyrifos, or esfenvalerate. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61: 404–413.
- Thompson, D.G., Wojtaszek, B.F., Staznik, B., Chartrand, D.T. and Stephenson, G.R.** (2004): Chemical and biomonitoring to assess potential effects of Vision® herbicide on mortality, avoidance response, and growth of amphibian larvae in two forest wetlands. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23: 832–842.
- Tilton, F.A., Tilton, S.C., Bammler, T.K., Beyer, R.P., Stapleton, P.L., Scholz, N.L. and Gallagher, E.P.** (2011): Transcriptional impact of organophosphate and metal mixtures on olfaction: Copper dominates the chlorpyrifos-induced response in adult zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 102: 205–215.
- Tsui, M.T.K. and Chu, L.M.** (2003): Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: Comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*, 52: 1189–1197.
- Ujhegyi, N. and Bókony, V.** (2020): Skin coloration as a possible non-invasive marker for skewed sex ratios and gonadal abnormalities in immature common toads (*Bufo bufo*). *Ecological Indicators*, 113: 106175.

EFFECTS OF PESTICIDES ON ENDANGERED AMPHIBIANS

N. Ujhegyi¹, Zs. Mikó¹, A. Hettyey¹ and V. Bókony^{1,2}

¹Lendület Evolutionary Ecology Research Group, Plant Protection Institute, Centre for Agricultural Research, Eötvös Loránd Research Network, Herman O. u. 15, Budapest, 1022 Hungary

²Department of Systematic Zoology and Ecology, Eötvös Loránd University, Pázmány Péter sétány 1/C, Budapest, 1117 Hungary

One of the hallmarks of safe and sustainable agriculture is reducing the hazards of pesticides. Because natural waters can get contaminated by pesticides, it is important to assess the risks these chemicals pose to aquatic species, especially to the endangered group of amphibians. We studied the water and sediment of small Hungarian ponds where several protected amphibian species breed, and we found only a few pesticide compounds during the amphibian larval period, most of which were residues of already banned, but persistent pesticides. We also studied the ecotoxicological effects of several pesticides in experiments where we raised common toad and agile frog tadpoles in water containing ecologically relevant concentrations of active ingredients. We found no effect on survival for glyphosate, terbuthylazine, deltamethrin, etofenprox, and chlorpyrifos, except that the formulation Glyphogan Classic with 3 mg/l glyphosate (which corresponds to the highest concentrations measured in surface waters) highly increased mortality. Our results show that the latter effect is due to the high sensitivity of early-stage tadpoles and the high toxicity of adjuvants found in several glyphosate-based formulations. We also found sub-lethal effects for some of the studied pesticides, including slower development and reduced body mass, but no effect on sex ratio. Altogether, our results suggest that moderate and careful pesticide use may minimize the risk of harm to small pond habitats and their amphibian fauna.

Keywords: sustainable agriculture, amphibians, male-to-female sex reversal, terbuthylazine, glyphosate, chlorpyrifos, etofenprox, deltamethrin

Érkezett: 2021. július 2.