

A GLYPHOSATE ALKALMAZÁSÁNAK KÖRNYEZET-EGÉSZSÉGÜGYI PROBLÉMÁI

Darvas Béla, Fejes Ágnes, Mörtil Mária, Bokán Katalin, Bánáti Hajnalka, Fekete Gábor és Székács András

MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai Osztály,
1022 Budapest, Herman Ottó út 15

A glyphosate napjaink növényvédő szereinek piacvezető hatóanyagai közé tartozik. Ez a helyzet a glyphosate-tűrő GM-növények Európán kívüli terjedésével erősödött. A glyphosate a talajban fém-ionokkal (Al, Fe, Mn, Zn) komplexet képez, amit a csapadék a mélyebb rétegekbe moshat. Elsődleges bomlásterméke az AMPA, mely mobilisabb a kiindulási anyagnál. Környezeti mintákból való meghatározása problematikus. Ez az oka annak, hogy a legtöbb országban nem szerepelnek a gyakorta kimutatott hatóanyagok között.

A glyphosate-tűrő GM-növények megjelenésével a glyphosatenak a takarmányokban/élelmiszerekben való megjelenésével kell számolni, míg a genetikai eseménytől függően az AMPA és NAG metabolitok is figyelmet érdemelnek. A glyphosate és készítményei (kiütetetlen a POEA formázó szert tartalmazók) mellékhatásairól jelentős szakmai vita folyik. A glyphosate csökkenti bizonyos növények betegségekkel szembeni ellenálló képességét, miközben segíti pl. a *Fusarium* fajok gyökereken történő kolonizációját. Toxikus kételtűekre. Teratogén-gyanús vegyület kételtűek és madarak esetében. A glyphosate tartalmú készítmények mutagenitása és karcinogenitása viták keresztüztében áll. Hormonmoduláns, amiben a formázóanyag (POEA) segíti a glyphosate hatását. Egyes gyomfajokból hosszabb használat után glyphosate-tűrő (GR) népségek szelektálódnak ki. Ma 21 fajt tartunk nyilván közöttük a parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia*) és a fenyércirok (*Sorghum halepense*) mellett *Amaranthus*, *Conyza* és *Lolium* fajok GR népségeit.

Kulcsszavak: glyphosate, AMPA, glyphosate-toleráns növény, mellékhatások, hormon moduláns, mutagén, teratogén

A glyphosate gyomirtó hatását Baird és munkatársai (1971) írták le. A US 3799758 számú szabadalom – amelyet számos követett – 1971-ben John Franz (Monsanto) nevéhez fűződik. A hetvenes évek közepén történő bevezetése után a glyphosate gyomirtók a kilencvenes évek közepére az eladási statisztikák élére kerültek. Ma a világon legjobban fogyó gyomirtószer-hatóanyagoknak tartják, s Kína szerepe ebben a helyzetben igen jelentőssé vált. Ezt, az aminosav-származék gyomirtók csoportjába tartozó, totális hatóanyagot eredetileg szántóföldi kultúrák vetés előtti (preemergens) gyomirtására, valamint csemetekertek és ruderális területek gyommentesítésére használták. Az eredeti

szabadalom lejártja után (2000) széles körű generikus forgalmazás (nálunk Agan, Agro-Chemie, Calliope, Cheminova, Pinus, Sinon) következett be, de a hatóanyag ma is a Monsanto egyik vezető terméke (a nemzetközileg ismert főbb gyártók még: Dow, Syngenta, NuFarm). A géntechnológiai úton módosított (GM) növények eddig legfontosabb gazdasági csoportját éppen erre a hatóanyagra tették tűrőképessé, ami jelentősen bővítette (lásd posztemergens felhasználás) a hatóanyag lehetőségeit (Duke és Powles 2008).

A glyphosate a növényekben lezajló siki-minsav-anyagcseréut gátolja. A glyphosate – amely maga is aminosav (glicin) származéka –

megakadályozza a központi intermedier kialakulását katalizáló enzim, az 5-enol-piruvil-sikiminsav-3-foszfát-szintáz (*EPSPS*) működését oly módon, hogy a foszfoenol-piruvát analógjaként annak helyére kötődik az enzim szubsztrátumaként. Ez az anyagcsereút-gátlás a triptofán, a fenil-alanin és a tirozin (ilyen módon végeredményben a fehérjék) szintézisét gátolja. Ezen esszenciális aminosavak szintézisének hiánya rövid időn belül a növény pusztulását okozza. Mivel az összes magasabb rendű növényben megtalálható ez a metabolikus út, ezért a hatás totális. A *glyphosate* hatóanyag felszívódó (szisztemikus) gyomirtó. Mivel növényekben a levelekre kijuttatva képes a gyökér felé vándorolni, így a viszonylag ritkább bazipetálistan transzlokálódó hatóanyagok közé soroljuk. Vízoldhatóságának fokozása céljából a készítményekben gyakran ammónium, izopropil-amin, nátrium, illetve trimetil-szulfónium (trimesium) só formájában hozzák forgalomba (Székács 2006).

A *glyphosate*-tűró kultúrnövények és szermaradék-problémájuk

A totális hatású *glyphosate* pre-emergens alkalmazása után a gyomok többsége elpusztul, elszárad, vadállatok útján fogyasztásra nem kerül. Ezen a helyzeten változtatott lényegesen a *glyphosate*-tűró növények megjelenése, ami a posztemergens kezelések engedélyezése miatt (összes kezelés: 2–3) a környezeti terhelést fokozza. Közülük a Monsanto fajtacsoportjai a legismertebbek, amelyek Roundup Ready (RR) néven váltak ismertté, utalva arra, hogy ezeknek a növényfajtáknak az esetében a *glyphosate* hatóanyagú, Monsanto által gyártott Roundup a növények kelése után is alkalmazható. A Bayer Gly-Tol néven, a Pioneer Optimum GAT néven jegyzi fajtaköreit, a Syngenta pedig Agrisure GT megnevezéssel. A *glyphosate*-tűró fajták fejlesztése során a növényi géntechnológusok kétféle stratégiát alkalmaztak: vagy a célenzim (*epsps*) egy mutáns, kevésbé érzékeny génjét használták (*cp4 epsps*, *mepsps*, *2mepsps*), vagy a *glyphosate*-ot metabolizáló gént (*gat*, *gox*) vittek be (1. táblázat). Ennek következménye,

hogy az első esetben a túlélő növényekben a szisztemikus típusú *glyphosate* (RR és Agrisure GT fajtakörök), a második esetben az *N*-acetil-*glyphosate* (NAG) (Optimum GAT fajtakör), illetve *AMPA* (RR és Agrisure GT fajtakörök, függetlenül attól, hogy *epsps* vagy *gox* alapúak) növényekben való kimutathatósága felértékelődött, mert a takarmányokban/élelmiszerekben nem ismert szermaradékokra kell számítanunk. Arregui és munkatársai (2004) 1997–1999 között végzett argentinai vizsgálataik alapján arról számoltak be, hogy egy tenyészidőszakban 2–3 *glyphosate*-kezelés alkalmazása után a betakarítás időszakában a RR-szója levelében és szárában 0,3–5,2 mg *glyphosate*/kg és 0,3–5,7 mg *AMPA*/kg, míg a termésben 0,1–1,8 mg *glyphosate*/kg és 0,4–0,9 mg *AMPA*/kg értékek mérhetők.

A *glyphosate* és bomlástermékei

A többi hatóanyaggal összehasonlítva a *glyphosate*-nak a talajban egyedi sajátosságai vannak. A növényvédő szerek általában a talajok szervesanyag-tartalmához kötődnek, mivel legtöbbjük molekuláiban apoláris csoportok dominálnak (Borggaard és Gimsing 2008). A *glyphosate* meghatározása viszont a mai napig kihívást jelent a vegyészek számára, köszönhetően a vegyület különleges amfoter (mind savas, mind bázikus) jellegének. Az alapvegyület (*N*-foszfonometil-glicin) és bomlásterméke (*AMPA*) szokásostól eltérő kémiai viselkedésének eredménye, hogy rutinszerű környezeti vizsgálatokkal nem mutathatók ki. A meghatározás problematikus voltának tulajdonítható az is, hogy a *glyphosate* eddig jobbra kimaradt a magyarországi környezeti állapotfelmérési vizsgálatokból, illetve előfordulását elhanyagolhatóknak tartottuk. Viszont például norvég felmérések a *glyphosate* és az *AMPA* gyakori előfordulásáról számoltak be felszíni vízmintákban. Az 1995–1999 között gyűjtött 540 felszíni vízminta 54%-ában mutattak ki *glyphosate*-ot vagy *AMPA*-t. A maximális mennyiség 0,93 µg/l (átlag 0,13 µg/l), *AMPA*-ból 0,2 µg/l (átlag 0,06 µg/l) volt (Ludvigsen és Lode 2001a, 2001b). Ez a monitorozás tehát a *glyphosate* és bomlástermékének széles körű, kis mennyiségben való

1. táblázat

Az EU engedélyezési rendszerében eljárás alatt lévő glyphosate-tűrő fajtacsoportok

Növény	Tulajdonos	Genetikai esemény	Bevitt gén
cukorrépa	Danisco S, Trifolium, Monsanto	A5-15	cp4 epsps, nptII,
cukorrépa	KWS SAAT, Monsanto	H7-1	cp4 epsps
gyapot	Bayer	GHB614	2mepsps
gyapot	Monsanto	MON 1445	cp4 epsps, nptII, aad
gyapot	Monsanto	MON 88913	cp4 epsps
kukorica	Monsanto	MON 88017	cp4 epsps, cry3Bb1
kukorica	Monsanto	NK603	cp4 epsps
kukorica	Pioneer	DP-98140	gat4601, als
kukorica	Syngenta	GA21	mepsps
olajrepcse	Monsanto	GT 73	cp4 epsps, gox
szója	Monsanto	MON40-3-2	cp4 epsps
szója	Monsanto	MON 87705	cp4 epsps, FAD2-1A, FATB1-A
szója	Monsanto	MON 89788	cp4 epsps
szója	Pioneer	DP-356043	gat4601

Megjegyzések: *aad* – *Escherichia coli* eredetű, aminoglikozid-antibiotikumok (streptomycin- és spectinomycin) elleni rezisztenciát hordozó gén; *als* – kukorica eredetű, ALS-gátló herbicidek (pl. *chlorimuron* és *thifensulfuron*) tűrését fokozó *zm-hra* gén; *cry3Bb1* – *Bacillus thuringiensis* eredetű, Cry3-toxint termelő gén; *FAD2-1A* – szója eredetű, az egyszerűen telített olajsavak arányát növelő gén; *FATB1-A* – szója eredetű, a telített zsírsavak arányát csökkentő gén; *cp4 epsps* – *Agrobacterium* sp. eredetű *epsps*; *mepsps* – kukorica eredetű *epsps*; *2mepsps* – kétszeresen mutált mexikói fekete, édes kukoricából származó gén; *gat4601* – *Bacillus licheniformis* eredetű, *glyphosate*-acetiltranszferáz gén; *gox* – *Ochrobactrum anthropi* eredetű, *glyphosate*-oxidáz gén; *nptII* – *Escherichia coli* K12 eredetű, neomycin- és kanamycin-rezisztenciát (neomycin-foszfotranszferáz) hordozó gén

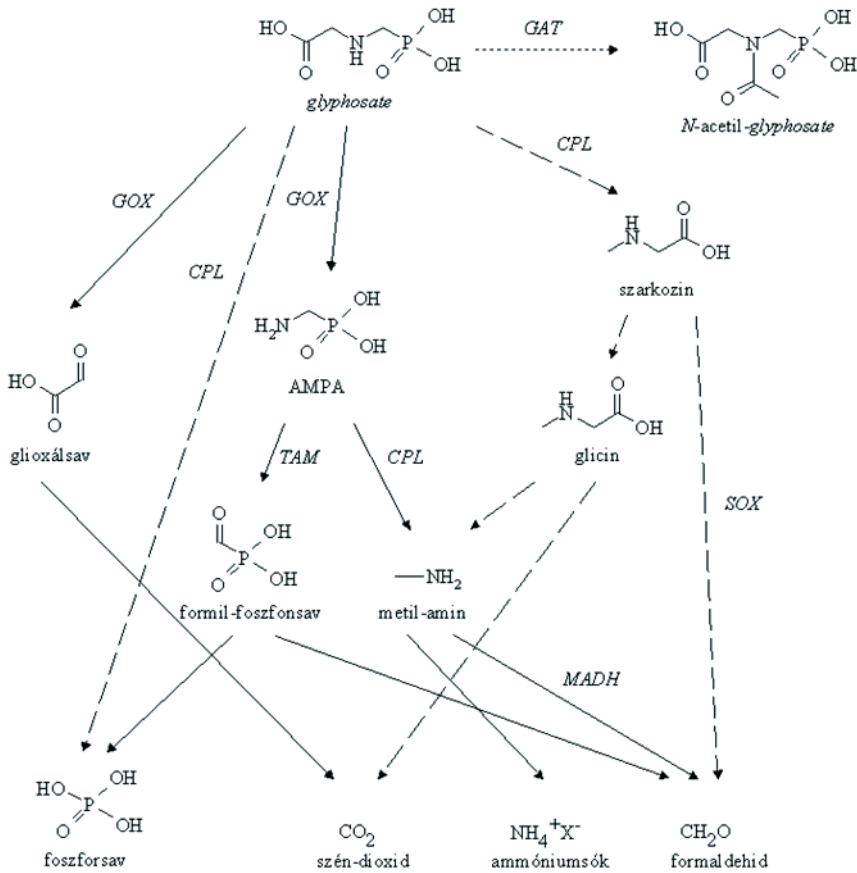
előfordulását demonstrálta. 2002-ben az Egyesült Államok középnyugati felszíni vizeiben a minták 35–40%-ában mértek *glyphosate*-ot maximum 8,7 µg/l mennyiségben, miközben az

AMPA a minták 53–83%-ából volt maximum 3,6 µg/l koncentrációban kimutatható (Battaglin és mtsai 2005). Kanadai mérésekben, 2004–2005 alatt vizsgált 502 minta 21%-ában mutattak ki *glyphosate*-szennyezettséget, amelynek maximuma 41 µg/l (*AMPA* maximum 30 µg *glyphosate*-ekvivalens/l) volt (Struger és mtsai 2008). Ezek a mérések figyelmeztető jelzéseként értékelhetők arra, hogy ez az eddig is rendkívül gyakran használt és a GM-növények amerikai terjedésével egyre gyakoribb felhasználású hatóanyag a felszíni vizeink szennyezése miatt megérdemli az ökotoxikológia kiemelt figyelmét.

A *glyphosate* meghatározására kifejlesztett analitikai eljárások ma már javarészt folyadék-kromatográfiás (*LC*) elválasztáson alapulnak, minthogy a régebbi gázkromatográfiás (*GC*) megoldások sokat veszítettek egykori jelentőségükből. A *GC* eljárásokban a *glyphosate* és fő bomlásterméke, az *AMPA* meghatározásának legnagyobb akadályát a vegyületek poláros és amfoter jellege jelenti, ami miatt a műszeres analitikai meghatározást megelőzően igen hosszadalmas minta-előkészítési lépésekre van szükség.

A legkorábbi hatósági kimutatásra akkreditált módszer (US FDA, 1977) vizes kivonást, anion-, majd kationcserés feldolgozást, trifluor-ecetsav és trifluor-ecetsav-anhidrid keverékével végzett *N*-acetilezéses, valamint mind az ecetsav-, mind a fosz-

fonsavrész metilezéses származékképzését alkalmazta, s csak ezután kerülhetett sor a foszfor szelektív detektorral történő *GC* meghatározásra. A módszerrel növényi mintákra elérhető



1. ábra. A *glyphosate* és lehetséges sorsa egyes lebontó enzimek közreműködésével. Oxidatív lebontás (folytonos nyílak), nem hidrolitikus lebontás (szaggatott nyílak), inaktiválás növényben (pontozott nyíl). Jelmagyarázat az átalakító enzimek (dőlt betűvel) neveihez – GOX: *glyphosate* oxidoreduktáz, GAT: *glyphosate* N-acetiltransferáz, CPL: C–P-liáz, SOX: szarkozin oxidáz, TAM: transzamináz, MADH: metil-amin dehidrogenáz

visszanyerések 70% felettieknek, a kimutatási határ 0,05 mg/kg értékűnek bizonyult. Szintén vizes kivonást, diklór-metán/kloroform eleggyel történő mosást, majd kationcserélő gyantán történő tisztítást, trifluor-acetátos és heptafluor-butyl-észteres származékképzést követő, GC meghatározást és tömegspektrometriás (MS) detektálást alkalmaz Alferness és Iwata (1994) módszere, s hasonló GC/MS/MS módszert is kidolgoztak (Royer és mtsai 2000). Az újabb LC módszerek egyszerűbb minta-előkészítéssel, gyorsabb és olcsóbb megoldást nyújtanak a *glyphosate* műszeres analitikai meghatározására, de ezek egy része sem nélkülözheti a szár-

mazékképzést, ami a megfelelően alacsony kimutatási határ eléréséhez szükséges. A minden esetben bonyolult, akár többlépcsős származékképzést igénylő GC módszerek ma már legfeljebb csak érzékeny kimutatási jellemzőikkel maradnak versenyben. A hasonló analitikai paramétereket eredményező, validált LC eljárások (Cowell és mtsai 1986, DFG 1992) kloroformos és sósavas mosást, ioncserélő gyantán történő tisztítást, majd semlegesítés utáni HPLC meghatározást alkalmazott, az elválasztást követő o-ftál-dialdehid/ merkaptó-etanolos származékképzéssel és fluoreszcenciás detektálással. A módszerben származékképzőként ninhidrin

vagy 9-fluorenil-metil-klór-formiát (Wigfield és Lanquette 1991; Nedelkoska és Low 2004) is alkalmazható. Az utóbbi évtized fejlesztéseinek köszönhető, hogy az LC módszerek kimutatási határait is sikerült az egyre szigorodó környezeti és egészségügyi határértékekhez igazodva leszorítani (Vreeken 1998, Grey és mtsai 2001, Lee és mtsai 2002a, Nedelkoska és Low 2004, Ibáñez és mtsai 2006, Laitinen és mtsai 2006, Hanke és mtsai 2008, Popp és mtsai 2008). A legújabb LC-MS-ESI módszerekkel könnyedén teljesíthetők az EU ivóvizek növényvédőszer-maradékaira vonatkozó 0,1 µg/l határértékű előírásai, de az eljárások drága műszert igényelnek. A *glyphosate* kimutatására alkalmazott innovatív analitikai módszerek közül kiemelhető a kapilláris elektroforézis technika, melynek kezdeti hátránya a viszonylag magas kimutatási határ volt, valamint az, hogy szinte minden esetben származékképzést vagy külső fluoreszcens jelzést igényelt (Cikalo és mtsai 1996, You és mtsai 2003, Kodama és mtsai 2008), melyre végül részint a csatolt tömegspektrometria (Goodwin és mtsai 2003) és a mikroextrakciós technikák (Hsu és Whang 2009, See és mtsai 2010) hoztak megoldást. Hasonlóképpen kiterjedten alkalmazták az immunanalitikai technikák közül az enzimjelzéses *immunoassay* (ELISA) módszereket. A kilencvenes évek elején még úgy tartottuk, a *glyphosate* és a hasonló amfoter szerkezetű, vízoldható kismolekulák ellen – azok csekély immunogenitása miatt – nem nyerhető jó antitest (Hammock és mtsai 1990), egy évtizedre rá sikerült megoldani az immunizálás nehézségeit, és érzékeny ELISA módszert kifejleszteni (Clegg és mtsai 1999, Lee és mtsai 2002b, Rubio és mtsai 2003), mely a gyakorlatban is jól alkalmazhatónak bizonyult *glyphosate* kimutatására (Mörthl és mtsai 2010, Kantiani és mtsai 2011). Az *immunoassay* rendszer alapján immunszenzor kifejlesztéséről is beszámoltak (González-Martínez és mtsai 2005), s a szenzortechnikában antitestfehérje helyett molekuláris imprintpolimert is alkalmaztak (Zhao és mtsai 2011).

A *glyphosate* lebomlása döntően két irányban zajlik: dekarboxilálással vagy defoszforilál-

lódással, így AMPA vagy glicin bomlási köztitermékeket eredményezve (1. ábra). Előbbi utat *glyphosate* oxidoreduktáz, utóbbit a szén-fosfor kötést hasító C–P-liáz enzimek katalizálják. A két út a környezeti közegben (talajban, vízben) és a növényekben zajló lebontási folyamatokban egyaránt jelen van. A *glyphosate* környezeti lebomlásában különbségek figyelhetők meg a laboratóriumban, illetve a szabadföldön mért DT₅₀ értékek között. A hatóanyag lebomlását laboratóriumi körülmények között kedvezőnek találták; a DT₅₀ érték talajban 47 nap, vízben 91 nap. A molekula félféletideje szabadföldi körülmények között, a talaj összetételétől függően néhány naptól akár néhány hónapig vagy évig is terjedhet. Ennek oka egyrészt a talaj mátrixanyagához való kötődés, amelyben a *glyphosate* a talajszemcséken megkötődve fémionokkal (Al, Fe, Mn, Zn) komplexet képez (Vereecken 2005). Másrészt pedig a *glyphosate* lebomlásának mértéke nagyban függ a talaj mikrobiális aktivitásától, amelyben a *Pseudomonas*-fajok szerepét emelik ki (Borggaard és Gimsing 2008). A talaj mikrobiális élete viszont számos egyéb talajökológiai tényező függvénye, többek között a talajhőmérséklete, a levegő- és vízellátottságé, illetve más részben még feltáratlan körülményeké, amely igen változékony feltételeket teremtenek a *glyphosate* lebomlásához (Stenrød és mtsai 2005, 2006). Laitinen és munkatársai (2006, 2008) azt találták, hogy a talajok foszfortartalma befolyásolja a *glyphosate* környezeti viselkedését, azaz megkötődését a talajszemcséken, illetve a felszíni vizekben való megjelenését. Weaver és munkatársai (2007) szerint a mikrobiális közösségre gyakorolt hatás rövid és átmeneti, továbbá Mississippi állam talajaiban a *glyphosate* lebomlási jellemzői nem változnak lényegesen a mélyebb talajrétegekben és a talajművelési módok szerint (Zablotowicz és mtsai 2009). Ehhez képest rendkívül eltérő eredményeket közöltek finn környezetkémikusok, akik csekély foszfortartalmú észak-európai homoktalajokban az alkalmazás után 20 hónappal a kijutatott mennyiség *glyphosate* esetében 19%-át, AMPA esetében 48%-át mérték (Laitinen és mtsai 2009). Ez már érthetővé teszi a skandináv környezetben kimutatott felszíniviz-

szennyezettséget. A talajok foszfortartalma elősegíti a *glyphosate* lebomlását (Borggaard és Gimsing 2008).

A *glyphosate* egyes sói kiemelkedő, az önmagában is jelentős vízdoldhatóságú (11,6 g/l 25 C-on) szabad foszfonsav alakú hatóanyaghoz képest egy-két nagyságrenddel nagyobb vízdoldékonyságuk (a vízdoldhatósági sorrend: trimetil-szulfóniumsó > izopropil-ammóniumsó > káliumsó > nátriumsó > ammóniumsó > *glyphosate*), így a hatóanyag az esővízzel még a talaj mélyebb rétegeibe is eljuthat, annak ellenére, hogy bizonyos körülmények között gyorsan bomlik, és erős a komplexképző hatása (Vereecken 2005). Elsődleges bomlásterméke növényben, vízben és talajban is az AMPA (amino-metil-foszfoszonsav), mely talajban sokkal mobilisabb, mint a kiindulási hatóanyag (Duke és Powles 2008).

Glyphosate és a Fusarium-fajok

Sanogo és munkatársai (2000) vették észre, hogy *glyphosate* alkalmazása után a szójában megnőtt a *Fusarium solani* f. sp. *glycines* által okozott pusztulás aránya. Kremer és munkatársai (2005) vizsgálataikban a *glyphosate* alkalmazása után a *glyphosate*-tűrő szója gyökérváladékának stimuláló hatását írták le szója gyökéréről izolált *Fusarium* sp. törzseinek növekedésére. A kezelések koncentrációfüggően növelték a gomba micéliumtömegét. Powel és Swanton (2008) szabadföldi vizsgálataik során nem találták ennek megerősítését. Kremer és Means (2009) szerint a növények gyökeréből talajba kerülő *glyphosate*-ot tápanyagként használják némely gombák, és ez segíti a szaporodásukat. Mindennek a talajok mangántartalmához is köze van, amennyiben az ahhoz való kötődéssel modulálja a *glyphosate* hatását. Tekintve, hogy a *Fusarium*-fajok közül igen sok mikotoxint termelő növényi patogén kerül ki, e fajok arányának növekedése nem tekinthető érdektelen mellékhatásnak. Johal és Huber (2009) igen sok növényi kórokozót (szóján pl. *Corynespora cassicola*, *Sclerotinia sclerotiorum*) sorolnak fel, amelyek virulenciája – szerintük – a *glyphosate*-alkalmazás után növekedik, közöttük több

Fusarium-fajt is (*F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. solani*). Véleményük szerint a *glyphosate* a mikroelem-anyagcsere zavarain keresztül csökkenti a növények védekező képességét és növeli bizonyos növényi betegségek virulenciáját. Zobiola és munkatársai (2011) megerősítették, hogy a *glyphosate* alkalmazása segíti a *Fusarium*-fajok szójagyökéren való kolonizációját, csökkenti viszont a rhizoszféra fluoreszcens *Pseudomonas* frakcióját, a mangánredukáló baktériumokat, továbbá az indolecetsav-termelő rhizobaktériumokat. Mindennek következménye a gyökér- és növénytömeg csökkenése.

A glyphosate és toxicitása kétéltűeken

A felszíni vizekben megjelenő vegyületek külön figyelmet igényelnek az ökotoxikológia részéről, hiszen olyan közegbe kerülnek, amely a vízi életformák élettere, s amire ivóvízbázisok is épülnek. Az ivóvíz lecserélhetetlen része a napi fogyasztásunknak, s így biztosítja a krónikus kitettséget, melynek következménye a krónikus betegségek lehetősége.

Tsui és Chu (2003) a vízi ökoszisztémákból választott modellfajokon – baktériumokon (*Vibrio fischeri*), mikroalgákon (*Selenastrum capricornutum*, *Skeletonema costatum*), protozoákon (*Tetrahymena pyriformis*, *Euplotes vannus*) és rákféléken (*Ceriodaphnia dubia*, *Acartia tonsa*) – tesztelte a *glyphosate*, annak leggyakoribb formázóanyaga, a polioxietilénaminok (POEA; más néven poetiloxilált faggyúaminok keveréke), valamint a formázott *glyphosate*-készítmény (Roundup) hatását. A vizsgálat legmeglepőbb eredménye, hogy a hatástalannak tartott felületaktív formázóanyagként alkalmazott POEA volt a legtoxikusabb összetevő. Talán nem is meglepő, hogy Cox és Sorgan (2006) kifogásolják, hogy az Egyesült Államok Környezetvédelmi Ügynöksége (EPA) által megkövetelt dokumentációk csak az aktív hatóanyagban való tesztelést írják elő, bár a formázóanyagok között többnek is karakterisztikus biológiai hatása van.

A *glyphosate*-nak a gerinces állatok többségén kedvező akut toxicitási értéke van. Ezek alapján az EPA III. toxicitási osztályba sorolta. Az Európai Közösség besorolása alapján

viszont az irritatív (Xi), illetve súlyos szemkárosodást okozó (R41) vegyületekhez került. Meg kell azonban jegyezni, hogy a napjainkban megkövetelt toxikológiai dokumentációban sem a kétélűeknek, sem a hullóknak nincs modellfajuk. Talán nem is véletlen, hogy az *atrazine* után (Hayes és mtsai, 2002, 2010) ez a második olyan gyomirtó, amely éppen kétélű fajokon (ma a Föld legveszélyeztetettebb csoportjának tartják) mutatott kedvezőtlen hatása miatt akad fenn.

Mann és Bidwell (1999) vizsgálta négy ausztrál békafaj (*Crinia insignifera*, *Heleioporus eyrei*, *Limnodynastes dorsalis* és *Litoria moorei*) ebihalait. A Roundup toxicitását és a 48 órás LC_{50} értékeket 3–12 mg *glyphosate*-ekvivalens/l értéknek találták. A kifejlett békák tűrőképessége sokkal jelentősebb volt. Chen és munkatársai (2004) vetették fel, hogy a táplálékhiány és a víz pH-értéke mint stresszfaktorok befolyásolják a *glyphosate* *Rana pipiens* békafajra gyakorolt hatását. Relyea (2005) számolt be a *glyphosate* használatával kapcsolatos ebihal-pusztulásokról (*Bufo americanus*, *Hyla versicolor*, *Rana sylvatica*, *R. pipiens*, *R. clamitans* és *R. catesbeiana*). A hatást – ami 2–16 mg *glyphosate*-ekvivalens/l koncentrációnál alakult ki – kapcsolatba hozta az ebihalak ragadozója, a *Notophthalmus viridescens* szalamandra által okozott stresszel. Relyea és Jones (2009) később az előzőekben felsoroltakhoz képest más békafajokat – *Bufo boreas*, *Pseudacris crucifer*, *Rana cascadea*, *R. sylvatica* – is bevontak a vizsgálatokba, és az LC_{50} értéket 0,82 mg *glyphosate*-ekvivalens/l értéknek találták. Négy szalamandrafaj (*Amblystoma gracile*, *A. laterale*, *A. maculatum* és *N. viridescens*) vizsgálatakor ez az érték 2,7–3,2 mg *glyphosate*-ekvivalens/l volt. Ebben az esetben a *glyphosate* hatóanyag *POEA* felületaktív anyaggal volt formázva. A további vizsgálatokban arra is fény derült, hogy az ebihalak versengésében szerepet játszó stressz (nagyobb sűrűség) növelte a *glyphosate* toxikus hatását (Jones és mtsai 2010). Lajmanovich és munkatársai (2010) *glyphosate*-kezelés után a *Rhinella arenarum* békafajon több enzimrendszer (pl. acetilkolin-észteráz és glutation-S-transzferáz) csökkent aktivitására figyeltek fel.

Sparling és munkatársai (2006) vörösfülű ékszerteknős (*Trachemys scripta elegans*) tojásait kezelve csupán magas dózissnál mutattak ki keléscsökkenést.

A *glyphosate* teratogén hatása

Külön figyelmet érdemel a *glyphosate*-tartalmú készítmények teratogenitása, amihez úgyszintén a kétélű fajokról származnak az első példák. Perkins és munkatársai (2000) azt találták, hogy *Xenopus laevis* békafaj embrióin (*FETAX* assay) a *glyphosate* hatása formulációfüggő. A természetben várható mennyiséghez – ez a legmagasabb alkalmazott dózissnál 2,88 mg *glyphosate*-ekvivalens/l – közel kerül az alkalmazás szempontjából biztonságos határ. Lajmanovich és munkatársai (2005) *Scinax nasicus* ebihalakon vizsgálva egy *glyphosate*-készítményt (Glyfos) azt találták, hogy 24 napos 3 mg/l kitettség után az ebihalak több mint fele torzfejlődési irányt vett. A kezelés az LC_{50} érték körüli koncentrációt jelentette.

Dallegrave és munkatársai (2003) vizsgálatában patkányokon, a megtermékenyítés utáni 6–15 napon igen nagy, 1000 mg/l koncentrációban való itatásakor a magzatokra toxikusnak találták, és azok csaknem fele csontrendszert érintő torzfejlődéssel jött világra.

A tengeri süin (*Sphaerechinus granularis*) embrióin *glyphosate*-tartalmú készítményeket tesztelve Marc és munkatársai (2004a) a sejtciklus szabályozásának felborulását észlelték. A gátlás a DNS-szintézist érinti az első sejtciklus G2/M fázisában (Marc és mtsai 2004b). Véleményük szerint a gyártásban dolgozók a határos koncentráció 500–4000-szeresét lélegzik be. A Roundup készítményhez használt *POEA* jelentős toxicitását írták le tengeri süinön (Marc és mtsai 2005). A nagyon korai DNS-károsodást Bellé és munkatársai (2007) a daganatsejt-kezeléssel hozzák kapcsolatba, és úgy gondolják, hogy az általuk kidolgozott kísérletes modell alkalmas lehet annak tesztelésére.

Napjainkban a *glyphosate*-tartalmú herbicidek teratogén hatásait kétélű- (*X. laevis*) és madár- (*Gallus domesticus*) embriókon tesztelték. Szubletális dózisban, közvetlenül beinjekciózva

az idegrendszer embrionális fejlődési szakaszában a rhombomérák elhelyezkedése és mintázata megváltozott; a velőszanc területe csökkent; az anterior-poszterior tengely megrövidült; a cefalikus markerek megjelenése gátolt volt. Emiatt a békaembriók hasonló fenotípusúvá váltak: a törzs megrövidült, a fejméret redukálódott, a szemek nem megfelelően vagy egyáltalán nem fejlődtek ki (*microphthalmia*), emellett egyéb koponyadeformitások jöttek létre a későbbi fejlődési stádiumokban. A magzatburkosok (Amnioták) közé tartozó csirkeembriókon tesztelve, hasonló teratogén hatásokat tapasztaltak. Ezek a fejlődési rendellenességek kapcsolatban állhatnak a retinolsav jelátviteli útvonal károsításával, melynek hatására bizonyos létfontosságú gének (*shh*, *slug*, *otx2*) kifejeződésének gátlása következett be. Ezek a gének az embriogenezis során, a neuruláció folyamatában kulcsfontosságú feladatokat töltenek be (Paganelli és mtsai 2010). E cikkkel kapcsolatban a Monsanto, Syngenta és Dow képviselőiben Saltmiras és munkatársai (2011), majd Mulet (2011) és Palma (2011) a szerkesztőnek írt levelekben kétségbe vonták Paganelli és munkatársai (2010) munkájának néhány állítását, azon az alapon, hogy a gyártók által végeztetett előzetes teratogenitási *GLP* vizsgálatokat több nemzetközi szervezet független szakértői bírálták. Véleményük szerint a szerzők által használt dózisek túl magasak voltak, és az alkalmazás módja (mikroinjekciózás) nem fordul elő a természetben. Carrasco (2011) válaszában annak a véleményének adott hangot, hogy a cégek képviselői figyelmen kívül hagyják azokat a tudományos tényeket, amelyek az *atrazine*, *glyphosate* és *triadimefon* retinolsav-szintézisen keresztüli teratogén hatását írják le. Véleménye szerint a Monsanto 180 kutatási jelentése közül 150 nem nyilvános, vagyis sohasem mutatták be a tudományos nyilvánosságnak. Vizsgálataik során hasonló fenotípusú válaszokhoz jutottak mikroinjekciós technikával, mint a készítmények inkubálásával.

Jayawardena és munkatársai (2010) egy Sri Lankán élő békafaj (*Polypedates cruciger*) ebihalain írtak le 1 ppm alkalmazása mellett közel 60%-os fejlődési rendellenességet.

A *glyphosate* genotoxikus hatása

Növényvédő szerekkel végzett munka, amelyben a *glyphosate* is előfordult, a férfiak krettségén keresztül is elvezethet terhességi problémákhoz (Savitz és mtsai 1997). Ez a jelenség a Vietnámi Háború veteránjainak dibenzo-dioxinokkal szennyezett, fenoxi-ecetsav hatóanyagú *Agent Orange* gyomirtójával keresztül került először az epidemiológia figyelmébe. Kale és munkatársai (1995) *Drosophila* recesszív letális mutációs tesztben figyeltek fel a Roundup mutagén hatására. Lioi és munkatársai (1998) emelkedő *glyphosate*-mennyiségnél a testvéromoszóma-kicserélődés (*SCE*) emelkedő arányát írták le emberi limfocitákban. Walsh és munkatársai (2000) egértumorsejteken a Roundup szex-szteroidok képződésében szerepet játszó fehérje (StAR) kifejeződésének gátlását mutatták ki, ami minimálisra csökkentette a koleszterol – pregnenolon – progeszteron átalakítást. Ahogyan a vegyületek mutagén hatásának felmérésekor lenni szokott, több vizsgálat nem találta a *glyphosate* hatóanyagot mutagénnek, így ilyesfajta besorolása sem található az *EPA/IARC* által készített GAP2000 adatbázisában. Cox (2004) dolgozatában viszont a *glyphosate* formázásában használt több anyag krónikus toxicitási profilját ismerteti.

Daruich és munkatársai (2001) vemhes patkányok citoszolikus dehidrogenáz enzimeinek aktivitását vizsgálva a májban, szívben és agyban arra a következtetésre jutottak, hogy a *glyphosate* mind az anya, mind a magzatjai esetében különféle rendellenességeket idéz elő. Benedettia és munkatársai (2004) vizsgálataiban a patkánymájban az aminoszteroidok aktivitása csökkent, ez károsította a hepatocitákat, aminek következtében májszöveti elváltozások léptek fel. McComb és munkatársai (2008) *in vitro* tesztben azt találták, hogy a *glyphosate* hatóanyag a patkánymáj mitokondriumaiban az oxidatív foszforiláció szétkapcsoló szerepét hat. Mariana és munkatársai (2009) injektálásos *glyphosate*-kezelés után a vérben, a májban és a herében az oxidatív stressz státusromlására figyeltek fel, ami a reprodukciós toxicitással hozható kapcsolatba.

Prasad és munkatársai (2009) citotoxikus hatást, továbbá kromoszomális rendellenességeket és mikronukleusz-képződést találtak egér csontvelősejteken. Poletta és munkatársai (2009) kajmánok vérében az erythrocitákról a Roundup genotikus hatását írták le, amit DNS-károsítással hoztak összefüggésbe.

De Roos és munkatársai (2003) felmérései szerint a nem-Hodgkin limfóma előfordulásának kockázata növekszik a növényvédő szereket felhasználók körében. Mindezt a *glyphosate*-tartalmú készítményekre is érvényesnek találták. Egy évvel későbbi, az Egyesült Államok kukorica-övezetében csak *glyphosate*-tartalmú készítményekre fókuszálva a legtöbb rosszindulatú betegségre elvégezve az elemzést csak a kóros plazmasejt-szaporodás (*myeloma multiplex*, *plasmocytoma*) előfordulási gyakoriságának enyhe növekedését tapasztalták (De Roos és mtsai, 2004). A mielóma a rosszindulatú hematológiai betegedések mintegy 10%-át teszi ki. Bár a betegség oka nem ismert, rizikófaktorai az autoimmun betegségek, bizonyos vírusok (*HIV* és *Herpes*), valamint egyes oldószerek gyakori használata. George és munkatársai (2010) egér bőrrák-modellkísérleteik alapján arról számoltak be, hogy a *glyphosate* több speciális fehérje indukciója miatt bőrtumorok promótere lehet.

A *glyphosate*, a POEA hormonmodulációs hatásai

Howe és munkatársai (2004) *Rana pipiens* ebihalak krónikus kitettségét vizsgálva azt találták, hogy a fejlődési rendellenességeken túlmenően azok 15–20%-ának gonádjai abnormális fejlődési irányt vettek és interszexuális karaktereket mutattak. Arbuckle és munkatársai (2001) azt mutatták ki, hogy a vizsgált mezőgazdasági farmon a *glyphosate* alkalmazása növelte a vetélések rizikóját. A *glyphosate*-tal dolgozó munkások és családtagjaik körében mérték a vizeletben a hatóanyag ürülését (Acquavella és mtsai 2004).

Richard és munkatársai (2005) azt találták, hogy a *glyphosate* toxikus a méhlepény JEG3-sejtjeire. A Roundup készítmény a *glyphosate* hatóanyagnál erősebb hatást mutatott. A *glyphosate* gátolta az ösztrogén-bioszintézisben

kulcsfontosságú aromataz enzimet. E hatást igazolta, hogy a hatóanyag *in vitro* tesztben is kapcsolódott a tisztított enzim kötőhelyéhez. A készítményben lévő formázó anyag felerősítette ezt a hatást a mikroszomális frakcióban. Benachour és munkatársai (2007) különböző sejtvonalakon a *glyphosate* és a Roundup Bioforce hatását vizsgálva szintén úgy találták, hogy a *glyphosate* aromatazgátló, és a formázó anyag szinergizálja ezt a hatást. Úgy gondolják, hogy a Roundup hormonmoduláns tulajdonsága hatással lehet az emberi reprodukcióra és a magzati fejlődésre. Benachour és Seralini (2009) három emberi sejtvonal vizsgálata alapján azt találták, hogy a *glyphosate* önmagában apoptózist indukál. A POEA és az AMPA kombinációban alkalmazva szinergista hatásokat mutat, hasonlóan a Roundup esetében tapasztalható együtthatáshoz, és a kombinált hatás sejtnekrózist is kivált. A hatáserősítés vélhető magyarázata az, hogy a POEA oldódásfokozóként elősegíti a plazmamembránon a *glyphosate* hatóanyag átjutását és akkumulálódását a sejtben. A tiszta hatóanyaghoz képest a formázott készítmények esetén ez a gátlás négyszeres mértékű volt. A szerzők bizonyítva látják, hogy a hatás nélkülinek (*inert*) tartott formázóanyagoknak gondolt POEA korántsem inaktív. Mivel takarmányokban 400 ppm nagyságrendben is engedélyezett a *glyphosate*-maradék előfordulása, Gasnier és munkatársai (2009) különböző *in vitro* vizsgálatokban kereste azt, hogy ez milyen hatásokat eredményezhet emberi májsejt-vonalon. Valamennyi kezelés koncentrációfüggő hatást mutatott citotoxicitási tesztekben, genotoxikusnak mutatkozott a *comet-assay* teszt módszerében, továbbá antiösztrogén és antiandrogén hatásúnak találták.

Gyomfajok *glyphosate*-rezisztenciája

A *glyphosate* igen gyakori alkalmazása, valamint a *glyphosate*-tűrő (GR) növények Európán kívüli terjedése a környezetben való megjelenését fokozza, és ez komoly szelekciós hatással van a gyomnövényekre. Eddig is ismert volt az, hogy néhány gyomnövény tűrőképessége eredendően nagy, ilyenek pl. a fehér libatop (*Chenopodium album*), a selyemmalva

(*Abutilon theophrasti*) és a bojtörjanszerbtövís (*Xanthium strumarium*).

1996-ban Pratley és munkatársai Ausztráliából írták le a GR *Lolium rigidum* első populációját. 1997-ben követte ezt a GR aszályfű (*Eleusine indica*) Malajzföldön (Lee és Ngim 2000), a GR betyárkóró (*Conyza canadensis*) az Egyesült Államokban (VanGessel 2001), a GR olaszperje (*Lolium multiflorum*) Chilében (Perez és Kogan 2003). További ismert GR fajok: Ausztráliából az *Echinochloa colona* (2007), az *Urochloa panicoides* (2008) és a *Chloris truncata* (2010); Dél-Afrikából a *Conyza bonariensis* (2003) és a lándzsás útifű (*Plantago lanceolata*, 2003); az Egyesült Államokból az ürmlevelű parlafű (*Ambrosia artemisiifolia*, 2004), az *Ambrosia trifida* (2004), az *Amaranthus palmeri* (2005), az *Amaranthus tuberculatus* (2005), a vesszős seprűfű (*Bassia scoparia*, 2007) és az egynyári perje (*Poa annua*, 2010); Spanyolországból a *Conyza sumatrensis* (2009); Dél-Amerikán belül Argentínából a fenyércirok (*Sorghum halepense*) (2005), az angolperje (*Lolium perene*, 2008); Braziliából az *Euphorbia heterophylla* (2006); Kolumbiából a *Parthenium hysterophorus* (2004) és Paraguayból a *Digitaria insularis* (2006) (Heap, Epubl).

Powles és munkatársai (1998) 711-szeres *glyphosate*-dózisnak ellenálló *L. rigidum* népszerűséget írtak le Ausztráliából. Shrestha és Hemree (2007) kaliforniai 58 leveles *Conyza canadensis* GR népszerűségénél csupán 24-szeres dózist túlélő növényeket találtak. Powles (2008) szerint nem véletlen, hogy azokban az országokban, ahol a *glyphosate*-tűrő kultúrnövények terjednek (Argentína és Brazília), ott a GR gyomnépszerűség előfordulása gyakoribbá válik. Véleménye szerint ez lesz a *glyphosate*-tűrő növények gyakorlatban való további terjedésének egyik legfontosabb akadálya. A *glyphosate*-rezisztencia öröklődő természetű, azaz a kezelt területeken a gyomok felgyarapodására kell számítani. A GR népszerűség vizsgálata során azt találták, hogy a *glyphosate*-tűrésében szerepet játszó célnzim génjének (*epsps*) mutációja (ma már a kukoricában is megtalálták a tűrésért felelős mutált allélt, lásd I. táblázatban *mepsps*, *2mepsps*) nem ritka

a természetben. A *glyphosate* csökkent vagy megváltozott felvételére, transzlokációjára is figyeltek, illetve a sejtekben való sorsa is megváltozhat (Shaner 2009), ami GR népszerűségeket eredményezhet. Mindez a *glyphosate*-tűrő növények huzamos termesztése esetén pótlólagos, más hatóanyagokkal végzett gyomirtó hatású kezelést tesz szükségessé.

IRODALOM

- Acquavella, J. F., Alexander, B. H., Mandel, J. S., Gustin, C., Baker, B., Chapman, P. and Bleeker, M.** (2004): *Glyphosate* biomonitoring for farmers and their families: results from the farm exposure study. Environ. Health Perspect., 112: 321–326.
- Alferness, P. L. and Iwata, Y.** (1994): Determination of *glyphosate* and (amino methyl)phosphonic acid in soil, plant and animal matrices and water by capillary gas chromatography with mass selective detection. J. Agric. Food Chem., 42: 2751–2759.
- Arbuckle, T. E., Lin, Z. and Mery, L. S.** (2001): An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. Environ. Health Perspect., 109: 851–857.
- Arregui, M. C., Lenardón, A., Sanchez, D., Maitre, M. I., Scotta, R. and Enrique, S.** (2004): Monitoring *glyphosate* residues in transgenic *glyphosate*-resistant soybean. Pest Manag. Sci., 60: 163–166.
- Baird, D. D., Upchurch, R. P., Homesley, W. B. and Franz, J. E.** (1971): Introduction of a new broadspectrum postemergence herbicide class with utility for herbaceous perennial weed control. Proc. North Cent. Weed Control Conf., 26: 64–68.
- Battaglin, W. A., Kolpin, D. W., Scribner, E. A., Kuivila, K. M. and Sandstrom, M. W.** (2005): *Glyphosate*, other herbicides, and transformation products in Midwestern streams, 2002. J. Amer. Water Resource Assoc., 41: 323–332.
- Bellé, R., Le Bouffant, R., Morales, J., Cosson, B., Cormier, P. and Mulner-Lorillon, O.** (2007): L'embryon d'oursin, le point de surveillance de l'ADN endommagé de la division cellulaire et les mécanismes à l'origine de la cancérisation. J. Soc. Biol., 201: 317–327.
- Benachour, N. and Séralini, G.-E.** (2009): *Glyphosate* formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. Chem. Res. Toxicol., 22: 97–105.
- Benachour, N., Sipahutar, H., Moslemi, S., Casnier, C., Travert, C. and Séralini, G.-E.** (2007): Time- and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 53: 126–133.

- Benedettia, A. L., de Lourdes Viturib, C., Gonçalves Trentina, A., Custódio Domingues, M. A. and Alvarez-Silva, M.** (2004): The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide *glyphosate*-biocarb. *Toxicol. Lett.*, 153: 227–232.
- Borggaard, O. K. and Gimsing, A. L.** (2008): Fate of *glyphosate* in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest. Manag. Sci.*, 64: 441–456.
- Carrasco, A. E.** (2011): Reply to the letter to the editor regarding our article (Paganelli et al., 2010). *Chem. Res. Toxicol.*, 24: DOI: 10.1021/tx200072k
- Chen, C. Y., Hathaway, K. M. and Folt, C. L.** (2004): Multiple stress effects of Vision herbicide, pH, and food on zooplankton and larval amphibian species from forest wetland. *Environ. Toxicol. Chem.*, 23: 823–831.
- Cikalo, M. G., Goodall, D. M. and Matthews, W.** (1996): Analysis of *glyphosate* using capillary electrophoresis with indirect detection. *J. Chromatogr. A*, 745: 189–200.
- Clegg, S. B., Stephenson, G. R. and Hall, J. C.** (1999): Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *glyphosate*. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 5031–5037.
- Cox, C.** (2004): Herbicide factsheet: *glyphosate*. *J. Pestic. Reform*, 24: 10–15.
- Cox, C. and Sorgan, M.** (2006): Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environ. Health Perspect.*, 114: 1803–1806.
- Cowell, J. E., Kunstman, J. L., Nord, P. J., Steinmetz, J. R. and Wilson, G. R.** (1986): Validation of an analytical residue method for analysis of *glyphosate* and metabolite: an interlaboratory study. *J. Agric. Food Chem.*, 34: 955–960.
- Dallegre, E., DiGiorgio Mantesea, F., Soares Coelho, R., S., Drawans Pereira, J., Dalsenterb, P. R. and Langeloha, A.** (2003): The teratogenic potential of the herbicide *glyphosate*-Roundup in Wistar rats. *Toxicol. Lett.*, 142: 45–52.
- Daruich, J., Zirulnik, F. and Gimenez, M. S.** (2001): Effect of the herbicide *glyphosate* on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. *Environ. Res.*, 85: 226–231.
- De Roos, A. J., Zahm, S. H., Cantor, K. P., Weisenburger, D. D., Holmes, F. F., Burmeister, L. F. and Blair, A.** (2003): Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. *Occup. Environ. Med.*, 60: Epubl. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1740618/pdf/v06p00e11.pdf>
- De Roos, A. J., Blair, A., Rusiecki, J. A., Hoppin, J. A., Svec, M., Dosemeci, M., Sandler, D. P. and Alavanja, M. C.** (2004): Cancer incidence among *glyphosate*-exposed pesticide applicators in the agricultural health study. *Environ. Health Perspect.*, 113: 49–54.
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft)** (1992): Method 405 *Glyphosate*. pp. 229–304. In: *Manual of Pesticide Residues Analysis*. Vol. II. VCH Publishers Inc., New York, USA.
- Duke, S. O. and Powles, S. B.** (2008): *Glyphosate*: a once-in-a-century herbicide. *Pest Manag. Sci.*, 64: 319–325.
- Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnon, M.-C. and Seralini, G.-E.** (2009): *Glyphosate*-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*, 262: 184–191.
- George, J., Prasad, S., Mahmood, Z. and Shukla, Y.** (2010): Studies on *glyphosate*-induced carcinogenicity in mouse skin: a proteomic approach. *J. Proteomics*, 73: 951–964.
- González-Martínez, M. A., Brun, E. M., Puchades, R., Maquieira, A., Ramsej, K. and Rubio, F.** (2005): *Glyphosate* immunosensor. application for water and soil analysis. *Anal. Chem.*, 77: 4219–4227.
- Goodwin, L., Startin, J. R., Keely, B. J. and Goodall, D. M.** (2003): Analysis of *glyphosate* and *glufosinate* by capillary electrophoresis-mass spectrometry utilising a sheathless microelectrospray interface. *J. Chromatogr. A*, 1004: 107–119.
- Grey, L., Nguyen, B. and Yang, P.** (2001): Liquid chromatography/electrospray ionization/isotopic dilution mass spectrometry analysis of *N*-(phosphonomethyl) glycine and mass spectrometry analysis of aminomethyl phosphonic acid in environmental water and vegetation matrices. *J. AOAC Int.*, 84: 1770–1780.
- Hammock, B. D., Gee, S. J., Harrison, R. O., Jung, F., Goodrow, M., Li, Q.-X., Lucas, A. D., Székács, A. and Sundaram, K. M. S.** (1991): Immunochemical technology in environmental analysis: Addressing critical problems. In: *Immunochemical Methods for Environmental Analysis* (Van Emon, J. and Mumma, R.O., Eds.) ACS Symp. Ser., Vol 442, 112–139, American Chemical Society, Washington, DC, USA.
- Hanke, L., Singer, H. and Hollender, J.** (2008): Ultratrace-level determination of *glyphosate* aminomethylphosphonic acid and *glufosinate* in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography – tandem mass spectrometry: performance tuning of derivatization, enrichment and detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 391: 2265–2276.
- Hayes, T. N., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. A. and Vonk, A.** (2002): Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide *atrazine* at low ecologically relevant doses. *PNAS*, 99: 5476–5480
- Hayes, T. B., Khoury, V., Narayana, A., Nazira, M., Parka, A., Browna, T., Adamea, K., Chana, E., Buchholzb, D., Stuevea, T. and Gallipeaua, S.** (2010): *Atrazine* induces complete feminization

- and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). PNAS, 107: 4612–4617.
- Heap, I.** (Epubl.): International survey of herbicide resistant weeds. Herbicide Resistance Action Committee, North American Herbicide Resistance Action Committee, and Weed Sci. Soc. Am. <http://www.weedscience.org/Summary/UspeciesMOA.asp?lstMOAID=12>
- Howe, C. M., Berrill, M., Pauli, B. D., Helbing, C. C., Werry, K. and Veldhoen, N.** (2004): Toxicity of *glyphosate*-based pesticides to four North American frog species. Environ. Toxicol. Chem., 23: 1928–1938.
- Hsu, C. C. and Whang, C. W.** (2009): Microscale solid phase extraction of *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid in water and guava fruit extract using alumina-coated iron oxide nanoparticles followed by capillary electrophoresis and electrochemiluminescence detection. J. Chromatogr. A, 1216: 8575–8580.
- Ibáñez, M., Pozo, O. J., Sancho, J. V., López, F. J. and Hernández, F.** (2006): Re-evaluation of *glyphosate* determination in water by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A., 1134: 51–55.
- Jayawardene, U. A., Rajakaruna, R. S., Navaratne, A. N. and Amerrasinghe, P. H.** (2010): Toxicity of agrochemicals to common hourglass tree frog (*Polypedates crugiger*) in acute and chronic exposure. Int. J. Agric. Biol., 12: 641–648.
- Johal, C. S. and Huber, D. M.** (2009): *Glyphosate* effects on diseases of plants. Eur. J. Agronomy, 31: 144–152.
- Jones, D. K., Hammond, J. I. and Relyea, R. A.** (2010): Competitive stress can make the herbicide Roundup more deadly to larval amphibians. Environ. Toxicol. Chem., 30: 446–454.
- Kale, P. G., Petty Jr. B. T., Walker, S., Ford, J. B., Dehkordi, N., Tarasia, S., Tasie, B. O., Kale, R. and Sohni, Y. R.** (1995): Mutagenicity testing of nine herbicides and pesticides currently used in agriculture. Environ. Mol. Mutagen., 25: 148–153.
- Kantiani, L., Sanchis, J. A., Llorca, M., Rubio, F., Farré, M. and Barceló, D.** (2011): Monitoring of *glyphosate* residues in environmental groundwater samples by ELISA and LC-MS/MS. In: Abs. 21st SETAC Europe Meeting, Ecosystem Protection in a Sustainable World: (Milan, Italy, May 16–19, 2011). 157.
- Kodama, S., Ito, Y., Taga, A., Nomura, Y., Yamamoto, A., Chinaka, S., Suzuki, K., Yamashita, T., Kemmei, T. and Hayakawa K.** (2008): A fast and simple analysis of *glyphosate* in tea beverages by capillary electrophoresis with on-line copper(II)-*glyphosate* complex formation. J. Health Sci., 54: 602–606.
- Kremer, R. J. and Means, N. E.** (2009): *Glyphosate* and *glyphosate*-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. Europ. J. Agronomy, 31: 153–161.
- Kremer, R. J., Means, N. E. and Kim, S.** (2005): *Glyphosate* affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. J. Anal. Environ. Chem., 85: 1165–1174.
- Laitinen, P., Siimes, K., Eronen, L., Rämö, S., Welling, L., Oinonen, S., Mattsoff, L. and Ruohonen-Lehto, M.** (2006): Fate of the herbicide *glyphosate*, *glufosinate-ammonium*, *phenmedipham*, *ethofumesate* and *metamitron* in two Finnish arable soils. Pest Manag. Sci., 62: 473–491.
- Laitinen, P., Siimes, K., Rämö, S., Jauhainen, L., Eronen, L., Oinonen, S. and Hartikainen, H.** (2008): Effects of soil phosphorous status on environmental risk assessment of *glyphosate* and *glufosinate-ammonium*. J. Environ. Qual., 37: 830–838.
- Laitinen, P., Rämö, S., Nikunen, U., Jauhainen, L., Siimes, K. and Turtola, E.** (2009): *Glyphosate* and phosphorous leaching and residues in boreal sandy soil. Plant Soil, 323: 267–283.
- Lajmanovich, R. C., Sandoval, M. T. and Peltzer, P. M.** (2005): Induction of mortality and malformation in *Scinax nasicus* tadpoles exposed to *glyphosate* formulations. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 70: 612–618.
- Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Junges, C. M. and Cabana, M. C.** (2010): Toxicity of four herbicide formulations with *glyphosate* on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) tadpoles: B-esterases and glutation-S-transferase inhibitors. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 60: 681–689.
- Lee, L. J. and Ngim, J.** (2000): A first report of *glyphosate*-resistant goosegrass (*Elusina indica* (L) Gaertn) in Malaysia. Pest. Manage Sci., 56: 336–339.
- Lee, E. A., Strahan, A. P. and Thurman, E. M.** (2002a): Methods of analysis by the U.S. geological survey organic geochemistry research group-determination of *glyphosate*, aminomethylphosphonic acid, and *glufosinate* in water using online solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. Open-File Report 01-454. Lawrence, KS, USA. (<http://ks.water.usgs.gov/pubs/abstracts/ofr.01-454.abs.html>)
- Lee, E. A., Zimmerman, L. R., Bhullar, B. S. and Thurman, E. M.** (2002b) Linker-assisted immunoassay and liquid chromatography/mass spectrometry for the analysis of *glyphosate*. Anal. Chem., 74: 4937–4943.
- Lioi, M. B., Scarfi, M. R., Santoro, A., Barbieri, R., Zeni, O., Salvemini, F., Di Bernardino, D. and Ursini, M. V.** (1998): Cytogenetic damage and induction of pro-oxidant state in human lymphocytes exposed in vitro to *glyphosate*, *vinclozolin*, *atrazine*, and DPX-E9636. Environ. Mol. Mutagen., 32: 3946.

- Ludvigsen, G. H. and Lode, O.** (2001a): "JOVA" – The agricultural environmental pesticides monitoring programme in Norway. Page 199-206. In: Vijgen, J., Pruszyński, S. and Stobiecki, S. (Eds) Proc. 6th International HCH and Pesticides Forum in Poznan. 2022 March.
- Ludvigsen, G. H. and Lode, O.** (2001b): Results from the agricultural and environmental monitoring program of pesticides in Norway 1995–1999. *Fresenius Environ. Bull.*, 10: 470–474.
- Mann, R. M. and Bidwell, J. R.** (1999): The toxicity of *glyphosate* and several *glyphosate* formulations to four species of Southwestern Australian frogs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 36: 193–199.
- Marc, J., Mulner-Lorillon, O. and Bellé, R.** (2004a): *Glyphosate*-based pesticides affects cell cycle regulation. *Biol. Cell*, 96: 245–249.
- Marc, J., Bellé, R., Morales, J., Cormier, P. and Mulner-Lorillon, O.** (2004b): Formulated *glyphosate* activities the DNA-response checkpoint of the cell cycle leading to the prevention of G2/M transition. *Toxicol. Sci.*, 82: 436–442.
- Marc, J., Le Breton, M., Cormier, P., Morales, J., Bellé, R. and Mulner-Lorillon, O.** (2005): A *glyphosate*-based pesticide impinges on transcription. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 203: 18.
- Mariana, A., de Alaniz, M. J. T. and Marra, C. A.** (2009): The impact of simultaneous intoxication with agrochemicals on the antioxidant defense system in rat. *Pesticide Biochem. Physiol.*, 94: 93–99.
- McComb, B. C., Curtis, L., Chambers, C. L., Newton, M. and Bentson, K.** (2008): Acute toxic hazard evaluations of *glyphosate* herbicide on terrestrial vertebrates of the Oregon Coast Range. *Env. Sci. Pollut. Res.*, 15: 266–272.
- Mörtl M., Maloschik E., Juracek J. és Székács A.** (2010): Növényvédőszer-maradékok gázkromatográfiás és immunanalitikai meghatározásának eredményei vizekben és talajokban. In: Komplex monitoring rendszer összeállítása talaj-mikroszennyezők analitikai kimutatására és biológiai értékelésére a fenntartható környezetért. MONTABIO-füzetek IV. 307. old. MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, Budapest.
- Mulet, J. M.** (2011): Letter to the editor regarding the article by Paganelli *et al.* *Chem. Res. Toxicol.*, 24: 609.
- Nedelkoska, T. V. and Low, G. K.-C.** (2004): High-performance liquid chromatographic determination of *glyphosate* in water and plant material after pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate. *Anal. Chim. Acta*, 511: 145–153.
- Palma, G.** (2011): Letter to the editor regarding the article by Paganelli *et al.* *Chem. Res. Toxicol.*, 24: 775–776.
- Paganelli, A., Gnazzo, V., Acosta, H., López, S. L. and Carrasco, A. E.** (2010): *Glyphosate*-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chem. Res. Toxicol.*, 23: 1586–1595.
- Perez, A. and Kogan, M.** (2003): *Glyphosate*-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. *Weed Res.*, 43: 12–19.
- Perkins, P. J., Boermans, H. J. and Stephenson, G. R.** (2000): Toxicity of *glyphosate* and *triclopyr* using the frog embryo teratogenesis assay – *Xenopus*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 940–945.
- Poletta, G. L., A. Larriera, A., Kleinsorge, E. and Mudry, M. D.** (2009): Genotoxicity of the herbicide formulation Roundup (*glyphosate*) in broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) evidenced by the comet assay and the micronucleus test. *Mut. Res. Gen. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 672: 95–102.
- Popp, M., Hann, S., Mentler, A., Fuerhacker, M., Stünger, G. and Koellensperger, G.** (2008): Determination of *glyphosate* and *AMPA* in surface and waste water using high-performance ion chromatography coupled to inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometry (HPIC-ICP-DRC-MS). *Anal. Bioanal. Chem.*, 391: 695–699.
- Powell, J. R. and Swanton, C. J.** (2008): A critique of studies evaluating *glyphosate* effects on diseases associated with *Fusarium* spp. *Weed Res.*, 48: 307–318.
- Powles, S. B.** (2008): Evolved *glyphosate*-resistant weeds around the world: lesson to be learnt. *Pest. Manage. Sci.*, 64: 360–365.
- Powles, S. B., Lorraine-Colwill, D. F., Dellow, J. J. and Preston, C.** (1998): Evolved resistance to *glyphosate* in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Sci.*, 46: 604–607.
- Pratley, J., Baines, P., Eberbach, R., Incerti, M. and Broster, J.** (1996): *Glyphosate* resistant annual ryegrass. Page 126. In: Virgona, J. and Michalk, D. (Eds) Proc. 11th Ann. Conf. Grassland Soc. New South Wales. Wagga Wagga, Australia
- Prasad, S., Srivastava, S., Singh, M. and Shukla, Y.** (2009): Clastogenic effects of *glyphosate* in bone marrow cells of swiss albino mice. *J. Toxicol.*, Epubl. <http://www.hindawi.com/journals/jt/2009/308985/>
- Relyea, R. A.** (2005): The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 48: 351–357.
- Relyea, R. A. and Jones, D. K.** (2009): The toxicity of Roundup Original Max to 13 species of larval amphibians. *Environ. Toxicol. Chemistry*, 28: 2004–2008.
- Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N. and Seralini, G.-E.** (2005): Differential effects of *glyphosate* and Roundup on human placental cells

- and aromatase. *Environ. Health Perspect.*, 113: 716–720.
- Royer, A., Beguin, S., Tabet, J. C., Hulot, S., Reding, M.-A. and Communal, P.-Y.** (2000): Determination of *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid residues in water by gas chromatography with tandem mass spectrometry after exchange ion resin purification and derivatisation. Application on vegetable matrices. *Anal. Chem.*, 72: 3826–3832.
- Rubio, F., Veldhuis, L. J., Clegg, B. S., Fleeker, J. R. and Hall, J. C.** (2003): Comparison of a direct ELISA and an HPLC method for *glyphosate* determination in water. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 691–696.
- Saltmiras, D., Bus, J. S., Spanogle, T., Hauswirth, J., Tobia, A. and Hill, S.** (2011): Letter to the editor regarding the article by Paganelli *et al.* *Chem Res. Toxicol.*, 24: 607–608.
- Sanogo, S., Yang, X. B. and Scherm, H.** (2000): Effects of herbicides on *Fusarium solani* f. sp. *glycines* and development of sudden death syndrome in *glyphosate*-tolerant soybean. *Disease Cont. Pest Manag.*, 90: 57–66.
- Savitz, D. A., Arbuckle, T., Kaczor, D. and Curtis, K. M.** (1997): Male pesticide exposure and pregnancy outcome. *Amer. J. Epidemiology*, 146: 1025–1035.
- See, H. H., Hauser, P. C., Sanagi, M. M. and Ibrahim, W. A.** (2010): Dynamic supported liquid membrane tip extraction of *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid followed by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *J. Chromatogr. A*, 1217: 5832–5838.
- Shaner, D. L.** (2009): Role of translocation as a mechanism of resistance to *glyphosate*. *Weed Sci.*, 57: 118–123.
- Sparling, D. W., Matson, C., Bickham, J. and Doelling-Brown, P.** (2006): Toxicity of *glyphosate* as Glypro and LI700 to red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) embryos and early hatchlings. *Environ. Toxicol. Chem.*, 25: 2768–2774.
- Shrestha, A. and Hemree, K.** (2007): *Glyphosate*-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) biotype found in the South Central Valley. *Calif. Agric.*, 61: 267–270.
- Stenrød, M., Eklo, O. M., Charnay, M.-P. and Benoit, P.** (2005): Effects of freezing and thawing on microbial activity and *glyphosate* degradation in two Norwegian soils. *Pest Manag. Sci.*, 61: 887–898.
- Stenrød, M., Charnay, M.-P., Benoit, P. and Eklo, O. M.** (2006): Spatial variability of *glyphosate* mineralization and soil microbial characteristics in two Norwegian sandy loam soils as affected by surface topographic features. *Soil Biol. Biochem.*, 38: 962–971.
- Struger, J., Thompson, D., Staznik, B., Martin, P., McDaniel, T. and Marvin, C.** (2008): Occurrence of *glyphosate* in surface waters of Southern Ontario. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 80: 378–384.
- Székács A.** (2006): 13. Gyomirtó szerek. 95–112 oldal. In: **Darvas B. és Székács A.** (szerk.) *Mezőgazdasági ökotoxikológia*. l'Harmattan, Budapest
- 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.
- US FDA** (1977): FDA/ACA-77/144A. Pesticide Analytical Manual. Vol. II. U.S. Food and Drug Administration, Rockville, MD, USA.
- You, J., Kaljurand, M. and Koropchak, J. A.** (2003): Direct determination of *glyphosate* in environmental waters using capillary electrophoresis with electrospray condensation nucleation light scattering detection. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 83: 797–806.
- VanGessel, M. J.** (2001): *Glyphosate*-resistant horseweed from Delaware. *Weed Sci.*, 49: 703–705.
- Vereecken, H.** (2005): Mobility and leaching of the *glyphosate*: a review. *Pest. Manag. Sci.*, 61: 1139–1151.
- Vreeken, R. J., Speksnijder, P., Bobeldijk-Pastorova, I. and Noij, Th. H. M.** (1998): Selective analysis of the herbicides *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid in water by on-line soil-phase extraction-high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 794: 187–199.
- Walsh, L. P., McCormick, C., Martin, C. and Stocco, D. M.** (2000): Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ. Health Perspect.*, 108: 769–776.
- Weaver, M. A., Krutz, L. J., Zablotowicz, R. M. and Reddy, K. N.** (2007): Effects of *glyphosate* on soil microbial communities and its mineralization in a Mississippi soil. *Pest Manag. Sci.*, 63: 388–393.
- Wigfield, Y. Y. and Lanquette, M.** (1991): Residue analysis of *glyphosate* and its principal metabolite in certain cereals, oilseeds and pulses by liquid chromatography and post-column fluorescence detection. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 74: 842–847.
- Zablotowicz, R. M., Accinelli, C., Krutz, L. J. and Reddy, K. N.** (2009): Soil depth and tillage effects on *glyphosate* degradation. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 4867–4871.
- Zhao, P., Yan, M., Zhang, C., Peng, R., Ma, D. and Yu, J.** (2011): Determination of *glyphosate* in foodstuff by one novel chemiluminescence-molecular imprinting sensor. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 78: 1482–1486.
- Zobiole, L. H. S., Kremer, R. J., Oliveira, Jr. R. S. and Constantin, J.** (2011): *Glyphosate* affects microorganisms in rhizospheres of *glyphosate*-resistant soybean. *J. Appl. Microbiol.*, 110: 118–127.

ENVIRONMENTAL HEALTH PROBLEMS OF GLYPHOSATE APPLICATIONS

B. Darvas, Ágnes Fejes, Mária Mörtl, Katalin Bokán, Hajnalka Bánáti, G. Fekete and A. Székács

Hungarian Academy of Sciences, Plant Protection Institute, Department of Ecotoxicology and Environmental Analysis, Budapest

Glyphosate-based herbicides are leading products of the current pesticide market, and this trend has further strengthened outside Europe with the spread of *glyphosate*-tolerant GM crops. *Glyphosate* forms complexes with metal ions (Al, Fe, Mn, Zn) in the soil, but precipitation washes it into deeper soil layers. Its primary metabolite, AMPA, is more mobile than the parent compound. Their detection in environmental samples is rather problematic, this is why these compounds are not listed in most countries among commonly detected pesticide residues. The expansion of *glyphosate*-tolerant GM crops is likely to result in more common occurrence of *glyphosate* in food and feed, and metabolites AMPA and NAG may also call for special attention depending on given genetic events. Severe professional debates are going on regarding the side-effects of *glyphosate* and its herbicide preparations (particularly those containing POEA as formulating agent). *Glyphosate* reduces disease tolerance of certain plants, while facilitating fungal root colonization e.g., *Fusarium* species. It is toxic to amphibians, and is suspected to exert teratogenicity on birds and amphibians. Mutagenicity and carcinogenicity of *glyphosate*-based preparations are at a cross-fire of debates. The hormone modulant effect of *glyphosate* is exacerbated by the formulating agent (POEA). Upon extended application, *glyphosate* resistant (GR) populations are selected from given weeds: the number of such species identified is 21, including GR *Amaranthus*, *Conyza* and *Lolium* populations besides ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) and Johnsongrass (*Sorghum halepense*).

Keywords: glyphosate, AMPA, glyphosate-tolerant plant, secondary effects, hormone modulant, mutagenicity, teratogenicity

Érkezett: 2011. augusztus 14.

PUBLIKÁCIÓS PÁLYÁZATOK (PUB)

**Az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (OTKA) Bizottsága
pályázatot hirdet az OTKA által támogatott kutatások eredményeinek
közzétételére, valamint forrásművek kiadására**

A publikációs pályázat (PUB) céljai:

Az OTKA által támogatott kutatások eredményeinek közérthető ismertetése, a kiemelkedő eredményeknek tudományos közléséhez szükséges kiegészítő költségek biztosítása, valamint forrásmunkák kiadásának támogatása három pályázati kategóriában, utólagos finanszírozással.

http://www.otka.hu/index.php?akt_menu=3531