

ECOLOGY

Cu hatásának vizsgálata a szivárványos guppi lárvák túlélésére és szívverésének intenzitására

D. Holis

Debreceni Egyetem, Ökológiai tanszék, Debrecen, Magyarország

*Corresponding author. E-mail: holis.diana@gmail.com

Paper received 15.07.2016; Accepted for publication 29.07.2016.

Absztrakt: a réznek erős toxikus és korrozív hatása van a vízi élővilágra. A természetre és vízi ökoszisztémákra gyakorolt hatását számos tanulmány részletezi. Ez a cikk a vízben oldott rézionok hatását vizsgálja a *Poecilia reticulata* (szivárványos guppi) szívverésére és túlélésének az arányára. A mortalitási ráta a nagyobb volt azok közt az egyedek közt, melyeket a töményebb Cu oldatban tartottunk. A Cu különböző koncentrációjú oldatai más-más hatással voltak a szívverésre, viszont mindegyik esetben jelentkezett a Cu korrozív hatása, amely bevérzéseket okozott a halivadékok testén.

Keywords: *Poecilia reticulata*, toxicitás, nehézfémek, Cu, vízszennyezés,

Bevezetés. A nehézfémekkel szennyezett vizek különböző fejlődési rendellenességeket okozhatnak a halak esetében. Korábbi vizsgálatok már bizonyították, hogy mind a juvenilis, mind az adult halegyedek esetében a nehézfém szennyezések hatására olyan fejlődési rendellenességek tapasztalhatóak, mint a vázrendszer és a csigolyák rendellenes fejlődése, a kopoltyúk torzulása, atrófiája és aszimmetrikus fejlődésen vagy a mellűszók aszimmetrikus fejlődése [1; 2; 3; 6].

A Cu ionok vízi élőlényekre való veszélyességét bizonyítja az is, hogy az akváriumokban a különböző halbetegségek kezelésére réztartalmú vegyszereket használnak (Cupramine, Malachitöld, Parakill, stb.) melyek ugyan a halakra is veszélyesek, de megfelelő koncentrációban a kórokozókra olyan időn belül letálisak, amilyen alatt még nem ártalmasak a halakra. Természetesen az ilyen vegyszerek biztonságos alkalmazásának a feltétele az, hogy az akváriumban lévő Cu ionokat tartalmazó vizet időben cseréljük le tiszta vízre, különben a réz Cu a halakra is letális lehet. A vízben található Cu ionok károsítják a halak kopoltyúit, veséjét és

máját, továbbá zavarják a szaglószerveik működését, ezáltal megnehezítve a párkeresést és párválasztást, illetve az utódokról való gondoskodást, gátolják a hematopoetikus szervek megfelelő működését, és lassítják a vérképzést [4; 5].

Anyag és módszer. A Cu hatásának a vizsgálat során réz szulfátból ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0,1 és 0,05 mg/L koncentrációjú oldatot készítettünk. Az oldat pontos összetevőinek pontos leméréséhez analitikai mérleget használtunk. A halivadékokat külön-külön tartályokba helyeztünk 1 db tartályba 5 db halivadék került, és valamennyi kezelés esetében (kontroll, Cu 0,1 mg/L, Cu 0,05 mg/L) 3-szoros ismétléssel végeztük a szívverés frekvenciájának mérését. Állandó körülmények között, 24 órás időközönként mértük a szívverés számukat. Keyence VHX 2000-es mikroszkóppal 30 sec-os videó felvételeket készítettünk minden egyedről 50x nagyításban. A kísérlet egymást követő 5 napon keresztül tartott, megszakítások nélkül, minden mérés ugyan abban az időben zajlott a cirkadián ritmus szívre gyakorolt hatásának a kiküszöbölése végett (Kneis & Siegmund 1976).



1. ábra. Szivárványos guppi lárvák szívverésének vizsgálata Keyence VHX 2000-es típusú mikroszkóppal.

Az egyedek etetése illetve az egyedek elhullásának az ellenőrzése, és a halott egyedek eltávolítása a aszakirodalomban általánosan elfogadottnak ítélt módszerekkel, a steril körülmények fenntartásával történt.

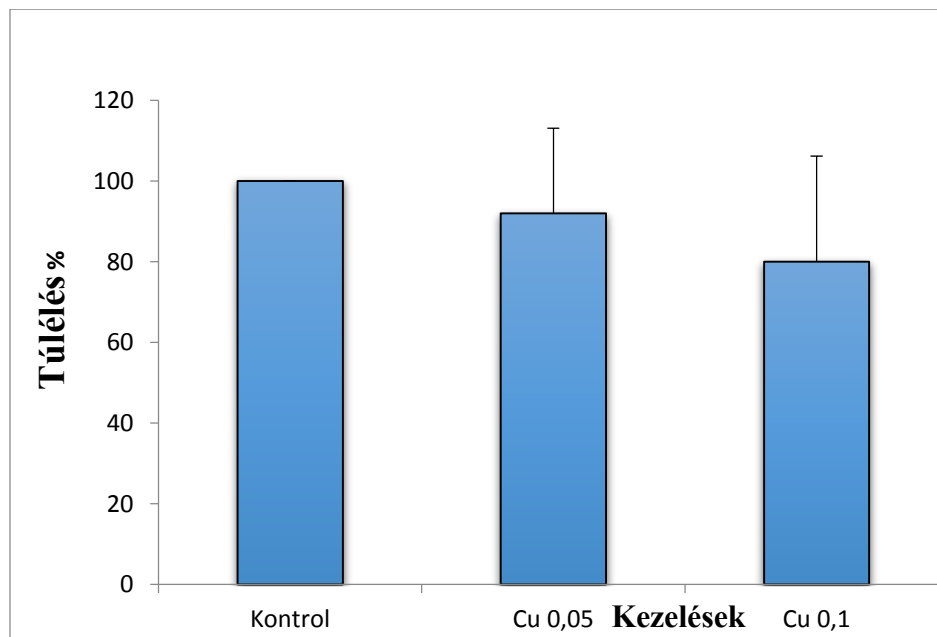
A kísérlet során napi több alkalommal, de minimum 2 órás gyakorisággal (az éjszaka folyamán is) ellenőriztük, történt-e elhullás a vizsgált halak közt. Az elhullás gyakori ellenőrzése létfontosságú volt a kísérlet szempontjából, hiszen az elpusztult egyedek teteme a vízben gyorsan bomlásnak indul, és olyan vegyületek szabadulhatnak fel, melyek veszélyeztethetik a többi egyed egészségét, ezáltal megváltoztathatják a metabolizmusukat, és befolyásolhatják a vizsgálat eredményeit.

Amennyiben a tartályban halott guppi fedeztünk fel azt azonnal eltávolítottuk egy pipetta segítségével. Fontos volt, hogy az elpusztult egyed eltávolítása ne kézzel vagy csipesszel történjen, mivel kézzel szennyező anyagokat vihettünk volna be az oldatba, míg a csipesszel megnyomva a halat a tetem nedveivel szennyeztük volna be az oldatot.

A kísérlet egymást követő 5 napon keresztül tartott, minden mérés ugyan abban az időben zajlott,

megszakítások nélkül. Fontos volt, hogy betartsuk a vizsgálatok során az azonos időpontban történő mérést, mivel a halak cirkadián ritmusa már az újszülöttek esetében is befolyást gyakorolhat a szívverésre. Az azonos időpontokban való méréssel kiküszöbölhetjük a cirkadián ritmus hatását a szívverésre a vizsgálatunk során. A halivadékokat minden második nap megfelelő mennyiségű microtáppal etettük, ezzel is lecsökkentve az esélyeit annak, hogy éhezés miatt pusztuljanak el. Ezután a videó felvételek kiértékelése következett, minden videót a VLC videoplayer programmal nyitottunk meg, mivel ez a program biztosította a legjobban a munkához szükséges könnyen irányítható kezelő felületet, és a videók elemzéséhez szükséges lassítás funkció irányítását. A felvételeket négyszeres lassításban vizsgáltuk, a pontosabb mérés érdekében. Az egyedek szívverését vizuális módszerrel számoltuk [5].

Eredmények. A kontroll oldatokban a vizsgált egyedek túlélése ebben az esetben is 100%-os volt. Ez után következett a 0,05 mg/L koncentrációjú Cu oldat, és végül a legkisebb túlélési arány természetesen a 0,1 mg/L koncentrációjú oldatban volt tapasztalható (2. ábra).



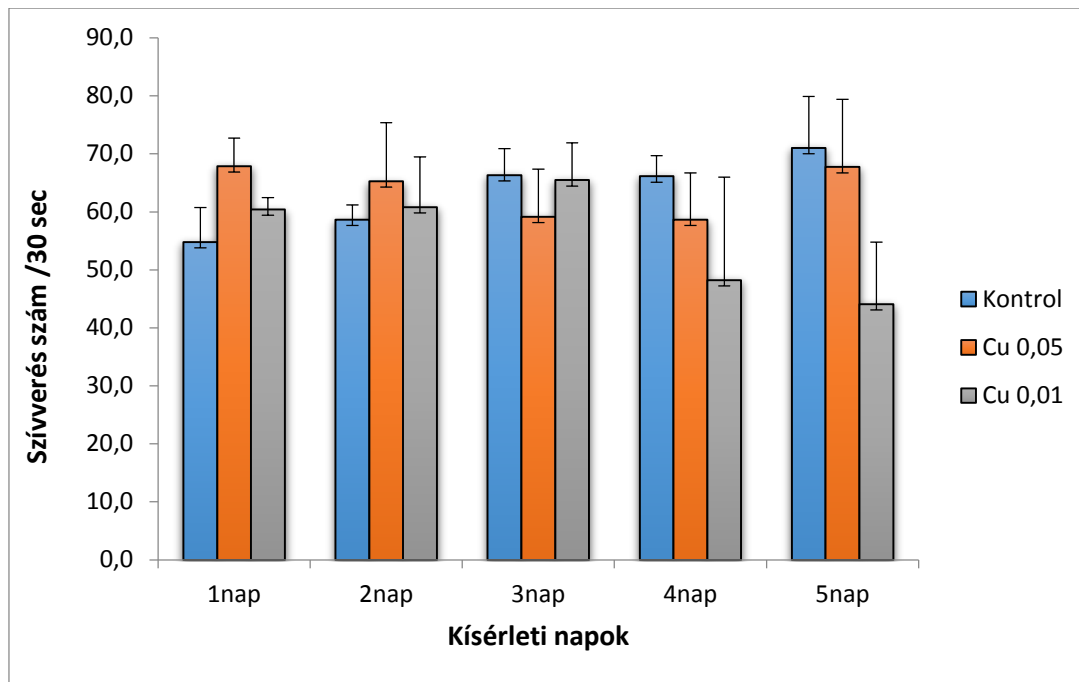
1. ábra. A guppi lárvák túlélése (átlag ± SD) a különböző Cu koncentrációjú oldatokban.

A különböző oldatokban tartott guppi ivadékok túlélési rátájában szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk ($H = 9,746$; $P = 0,077$).

A szívverés intenzitását az eltelt idő (napok) függvényében itt is vizsgáltuk. A 3. ábrán láthatjuk hogy a Cu oldatok esetében nem figyelhetünk meg egy

folyamatosan csökkenő, vagy növekvő tendenciát a halak szívverésében.

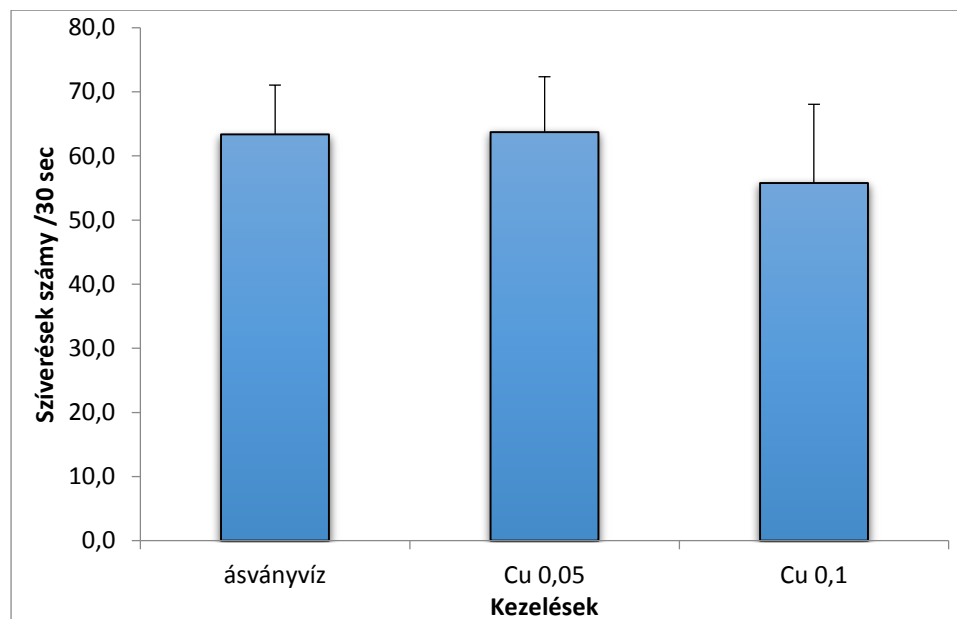
A 0,05 mg/L koncentrációjú Cu oldatban a halak szívverése lassú, de folyamatos csökkenést mutat az első négy nap folyamán, majd az utolsó nap egy hirtelen ugrást tapasztalhatunk a szívverés számban, mellyel a szívverés majdnem eléri a kiindulási értéket.



2. ábra. A szívverések száma (átlag ± SD) a kísérleti napok függvényében.

A 0,1 mg/L koncentrációjú Cu oldatban a halak szívverése az első három nap folyamán növekszik, majd egy hirtelen zuhanást tapasztalhatunk a szívfrekvenciában.

Összességében a szívverés rátájának a változásában nem tapasztalunk szignifikáns különbséget az eltelt napok függvényében ($H = 3,948$, $P = 0,139$).



3. ábra. Szivárványos guppi lárvák szívverésének száma (átlag ± SD) különböző Cu koncentrációjú oldatokban.

A 4. ábra szemlélteti, hogy a legnagyobb szívverés szám nem a kontrol csoportban volt mérhető. A Cu-ot tartalmazó oldatokban, míg a 0,05 mg/L koncentrációjú Cu oldatban az átlag szívverés szám 63,7/30 sec volt a kontrolban 63,4/30 sec. Továbbá a 0,1 mg/L koncentrációjú Cu oldatban a szívverés szám viszont jelentősen kisebb volt, mind a kontrolban, mind a 0,05 mg/L koncentrációjú Cu oldattól (55,8/30 sec). Mindezek ellenére a különböző oldatban tartott egyedek szívverésében szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk ($H = 3,948$; $P = 0,139$).

Következtetések. A kísérlet során kapott eredmények egyértelműen mutatják, hogy az alkalmazott Cu mennyiségek jelenléte a vízben befolyással van a halak túlélési rátájára és szívverés intenzitására. Tapasztalhattuk, hogy a nagyobb volt a mortalitási ráta azok közt az egyedek közt, melyeket a töményebb Cu oldatban tartottunk. A hígabb és töményebb Cu oldatokban másképp változott a pulzusszám. Míg a 0,05 mg/L koncentrációjú Cu oldatba a pulzusszám a negyedik napig folyamatosan csökkent, majd az utolsó nap egy hirtelen ugrás volt megfigyelhető,

mellyel a szívfrekvencia majdnem visszatért arra az értékre, amit első nap mértünk. A 0,1 mg/L koncentrációjú Cu oldatban a szívverés szám az első három nap folyamán emelkedett, még hozzá úgy hogy a harmadik nap egy kisebb ugrás volt tapasztalható a szívfrekvenciában. A negyedik és ötödik nap folyamán rohamos csökkenés volt tapasztalható a halak pulzusszámában.

Az oldatban lévő Cu hatása nem csak a halak szívverés számán mutatkozott meg. A kísérlet folyamán az összes 1

mg/L koncentrációjú Cu oldatban lévő hal testén bevérzések jelentek meg. A 0,05 mg/L koncentrációjú Cu oldatokban szintén megfigyeltünk bevérzéseket, bár ezek kevésbé voltak kifejezettek, mint az 1 mg/L koncentrációjú Cu oldatban, és ritkábban is fordultak elő. A bevérzések a halak kopoltyúin (5. ábra), gyomrában és mellüregében jelentek meg. Feltételezhetjük, hogy ezeket elsősorban a Cu ionok korrozív hatása okozhatta.



4. ábra. Bevérzés a guppi ivadék kopoltyúján

A réz oldatban tartott guppik elhalálzásának egyik elsődleges okaként a Cu ionok által okozott bevérzéseket tarthatjuk felelősnek. Úgy véljük, hogy szívverés szám, változásának az elsődleges oka a Cu zavaró szerepe a vérképzésben. Az egyértelművé vált a kísérletből, hogy a vizsgált koncentrációkban Cu ionok jelenléte az oldatban negatív hatással van mind a halivadékok túlélési rátájára, mind a szívverés számra.

A kutatásunk során a Cu hatását vizsgáltuk a szivárványos guppi ivadékokra (a túlélési arányukra és a

szívverés számukra). Vizsgálataink eredményei alapján láthatóvá vált, hogy a Cu jelenléte az oldatban hatással van mind a halak túlélésére, mind a szívverésükre. A Cu elsősorban azokon a területeken fejt ki a hatását, amelyekkel közvetlenül érintkeznek. Elsősorban a szövetekre kifejtett korrozív hatásán és a szervezetre gyakorolt toxicitásán keresztül fejt ki a hatását a halak szervezetére. Ez az oka annak, hogy a Cu oldatokban lokális bevérzések jelentkeztek a halak testén.

REFERENCES

1. Alam, M. K., Maughan, O. E. (1992). The effect of malathion, diazinon, and various concentrations of zinc, copper, nickel, lead, iron, and mercury on fish. *Biological Trace Element Research*, 34(3): 225-236.
2. Bengtsson, B.E., Bengtsson, Å., Himberg, H. (1985). Fish Deformities and Pollution in Some Swedish Waters. *Ambio*, 14 (1): 32-35.
3. Clearwater, S. J., Farag, A. M., Meyer, J. S. (2002). Bioavailability and Toxicity of Dietborne Copper and Zinc to Fish. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*, 132(3): 269-313.
4. EPA National Recommended Water Quality Criteria 2007 - Aquatic Life Criteria Table <https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table>
5. Ezeonyejiaku, C. D., Obiakor, M. O., Ezenwelu, C. O. (2011). Toxicity of copper sulphate and behavioural locomotor response of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and catfish (*Clarias gariepinus*) species. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 1(4): 130-134.
6. Holis, D., Simon E. (2015). Zn hatásának vizsgálata szivárványos guppi lárvátúlélésére és szívverésének

intenzitására. Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences, 3(8): 40-43.

7. Kneis, P., Siegmund, R. (1976). Heart rate and locomotor activity in fish: Correlation and circadian and circannual differences in *Cyprinus carpio* L. *Experientia*, 32(4): 474-476.

Köszönetnyilvánítás: Ezúton szeretnék köszönetet nyilvánítani a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft-nek a támogatásért, amely nélkül a kutatást nem lehetett volna kivitelezni. A Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft által rendelkezésünkre bocsátott Keyence VHX 2000-es mikroszkóp segítségével kiváló minőségű felvételeket készíthettünk.

Influence of Cu on the survival rate and heart rate of guppy larvae

D. Holis

Abstract: the copper has a strong toxic and corrosive effect on the water life. Its effects on nature and ecosystem is described in many studies. This paper is dealing with the effect of the copper ions in water on the fry of guppy (*Poecilia reticulata*), namely on the survival rate and heart rate of the fish fry. The research showed that the copper has negative effect on both the survival rate and the heart rate of the *Poecilia reticulata* fryes. The mortality rate was higher in the fish kept in higher concentration copper solution. The effects on the hearth rate were different in different concentrations, but we could see in both solutions the corrosive effect of the copper, which manifested in the appearances of hematomas in the tissues of the fish which were in direct contact with the solution.

Keywords: *Poecilia reticulata*, toxicity, haevy metals, Cu, water polution