



BRAVO 500 fungicid és a réz-szulfát egyedi és együttes méreghatásának teratológiai vizsgálata házityűk-embriókon

¹Budai P., ¹Szabó R., ¹Kormos É., ²Lehel J.

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

²Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar, 1078 Budapest, István u. 2.

ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgálatunk során fejlődő csirkeembriókon tanulmányoztuk egy széles körben alkalmazott klórtalonil hatóanyagú fungicid (BRAVO 500) és a környezeti fémterhelést modellező réz-szulfát egyedi és együttes méreghatását. Kísérleti anyagként 0,01%-os réz-szulfát-oldatot és a BRAVO 500 (40% klórtalonil) gombaölő szer 1 és 10%-os emulzióját alkalmaztuk. A bemejtéses kezelést a keltetés első napján, míg a tojások felbontását a 19. napon végeztük el. Lemértük az embriók testtömegét, feljegyeztük az elhalások számát továbbá, rögzítettük a makroszkópos embrionális elváltozásokat. A biometriai értékelést varianciaanalízissel végeztük. A BRAVO 500 fungicid és a réz-szulfát együttes madárteratológiai vizsgálatának eredményei alapján megállapítottuk, hogy a kísérleti anyagok együttes alkalmazása során a viszonylag alacsony környezeti rézterhelés (mely önmagában kismértékben embriotoxikus lehet) mellett a növényvédelmi gyakorlatban alkalmazott BRAVO 500 gombaölő szeres kezelés additív formában fokozta az embriotoxicitást, amely az embriók szignifikáns mértékű kisebb testtömegében és az embrió mortalitás növekedésében nyilvánult meg az általunk alkalmazott kísérleti körülmények között.

(Kulcsszavak: klórtalonil, réz-szulfát, interakció, ökotoxikológia, madárembrió)

ABSTRACT

Teratogenicity test of chlorotalonil containing fungicide formulation (BRAVO 500) and copper sulphate in chicken embryos after single and simultaneous administration

P. Budai¹, R. Szabó¹, É. Kormos¹, J. Lehel²

¹University of Pannonia, Georgikon Faculty, H-8360 Keszthely, Deák F. str. 16.

²Szent István University, Faculty of Veterinary Science, H-1078 Budapest, István str. 2.

The aim of this study was to determine the individual and combined toxic effects of BRAVO 500 fungicide (40% chlorotalonil) and copper sulphate on the development of chicken embryos. On the first day of incubation chicken eggs were dipped in the solution or emulsion of the test materials for 30 minutes. Applied concentration of copper sulphate was 0.01% and of fungicide BRAVO 500 were 1% and 10%. The chicken embryos were examined for the followings: rate of embryo mortality, body weight, type of developmental anomalies, macroscopic examination. Our teratogenicity study revealed that, the combined administration of copper sulphate and chlorotalonil containing fungicide formulation (BRAVO 500) caused a significant reduction in the

body weight of embryos and increased the rate of embryonic mortality. The joint toxic effect of copper sulphate and BRAVO 500 is an additive effect compared to the individual toxicity of the test materials.

(Keywords: chlorotalonil, copper sulphate, interaction, ecotoxicology, chicken embryo)

BEVEZETÉS

Napjainkban a mezőgazdasági termelésnek az élelmiszer előállításán túl fokozott figyelmet kell fordítania az élővilágot érő környezetterhelés csökkentésére, illetve elkerülésére. A növényvédő szerrel kontaminált környezetben a peszticidek megváltoztatják az élőszervezetek kémiai környezetét és ezzel megteremtik a mérgezés lehetőségét. A fácán reprodukciós időszaka rendszerint egybeesik a tavaszi vegyszeres növényvédelmi munkák elvégzésével, ami indokolja, hogy ökotoxiológiai szempontból értékeljük a peszticidek fejlődő madárembrióra gyakorolt hatását. A környezeti rézterhelés forrásai között az ipari szennyezések mellett jelentős szerepet játszik a mezőgazdasági termelés, mivel a rézvegyületek felhasználásra kerülnek mikroelem trágyákban, valamint gombaölő szerek hatóanyagaiként is, amelyek lehetőséget biztosítanak a vadmadarak tojásainak expozíciójára (*Jeng és Yang, 1995*). A környezetbe jutó testidegen kémiai anyagok mérgező hatása nemcsak egyedileg jelentkezik, hanem a különböző xenobiotikumok együttes méreghatása révén megváltozhat azok egyedi toxicitása, mely gyakran eredményezi a károsító hatások fokozódását (*Thompson, 1996*). A madárteratológiai vizsgálatok során alkalmazott bemelegítő kezelés lehetővé teszi a madárembrióra gyakorolt indirekt hatások tanulmányozását, és így megfelelően modellezi a környezetben érvényesülő egyedi és interakciós károsító hatásokat (*Lutz és Oterag, 1973; Hoffman és Gay, 1981*). A tojásba bejutó testidegen kémiai anyag mennyiségét döntően befolyásolhatja a tojások méshéjának áteresztő képessége, mely fajra jellemző bélyeg, de nagymértékben függ a méshéjképződéskor jelenlévő környezeti tényezőktől is, amelynek következtében az ugyanazon egyedtől származó, egymást követő tojások méshéj-porozitása is eltérő lehet (*Tullett és Deeming, 1982; Tyler, 1955*).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A környezeti rézterhelés modellezésére 0,01%-os koncentrációjú réz-szulfát-oldattal (Reanal-Ker Kft., Magyarország) végeztük az egyedi és együttes kezeléseket. A 40% klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 (Syngenta Növényvédelmi Kft., Magyarország) gombaölő szert, mind az egyedi, mind a kombinációs kezeléseket során gyakorlati permetlé töménységben (1%) és annak tízszeres dózisában (10%) alkalmaztuk. A vizsgálathoz szükséges termékeny tyúktojások a Goldavis Kft. (Sármellék, Magyarország) vegyes hasznosítású, Farm fajtájú tenyészetéből (apai és anyai vonal Farm) származtak. A tojások keltetése RAGUS[®] (Wien, Ausztria) típusú asztali keltetőgépben történt. A keltetés ideje alatt gondoskodtunk a megfelelő hőmérsékletről (37–38 °C), a páratartalomról (65–75%) és a tojások naponta történő forgatásáról. A tyúktojásokat (n=40/csoport) a vizsgálati anyagokból készült 37 °C-os hőmérsékletű oldatokba és emulziókba, valamint azok kombinációjába helyeztük 30 perces időtartamra, majd a folyadék lecsepegtetése után indítottuk a keltetést. A tojásokat a keltetés 19. napján dolgoztuk fel. A tojások felbontását követően jegyzőkönyvben rögzítettük az embriók testtömegét, az elhalások számát és a makroszkópos magzati deformitásokat. Az élő embriók testtömeg adatainak eloszlását a Kolmogorov-Smirnov

tesztel, statisztikai értékelését – mivel az adatok normál eloszlásúak voltak – egytényezős variancia analízissel végeztük. Az embriomortalitás és a fejlődési rendellenességek értékeléséhez a RXC X^2 tesztet, utótesztként Fischer-féle egzakt tesztet használtunk (Baráth és mtsai., 1996). A statisztikai értékelés során a szignifikancia minimumértékének a $p < 0,05$ szintet tekintettük.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A madárteratológiai vizsgálat számszerű adatait az *1. ábra* és az *1. táblázat* foglalja össze.

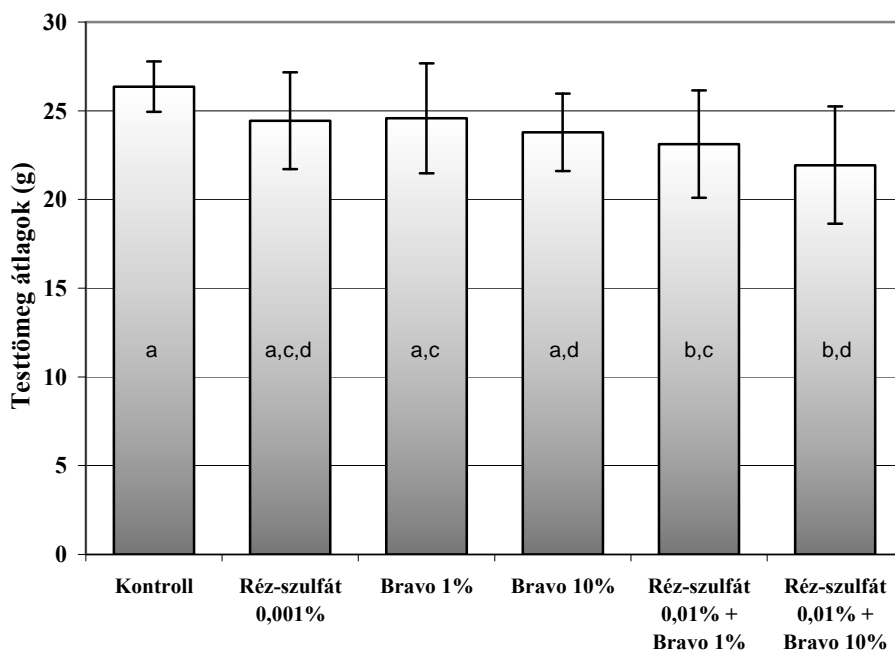
Az *1. ábrán* látható, hogy a réz-szulfát 0,01%-os koncentrációval történt egyedi bemerítéses kezelés eredményeként az embriók testtömeg értékei kisebbek voltak a kontroll értékekhez viszonyítva, de az eltérés statisztikailag nem volt igazolható. A klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 egyedi toxicitásának vizsgálatakor a fungicidet a növényvédelemben felhasznált töménységben alkalmazva, a kezelés eredményeként kisebb testtömeg értékeket mértünk a kontroll csoportban mért értékekhez képest, a testtömeg eltérése azonban nem volt szignifikáns mértékű (*1. ábra*).

A klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 gombaölő szernek a gyakorlati töménységhez viszonyított tízszeres dóziséval elvégzett kezelés csökkentette az embriók testtömeg értékeit a kontroll csoportban mért értékekhez képest, de az eltérés statisztikailag nem volt igazolható (*1. ábra*). A réz-szulfát és a klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 fungicid együttes méreghatásának vizsgálata során a réz-szulfátot szubtoxikus – azaz 0,01%-os töménységben, a növényvédő szert gyakorlati permetlé töménységben alkalmazva azt tapasztaltuk, hogy a kezelés hatására a madárembriók testtömegei szignifikáns mértékben kisebbek voltak ($p < 0,05$) a kontroll csoport adataihoz viszonyítva (*1. ábra*). A réz-szulfát és a klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 fungicid együttes méreghatásának vizsgálata során a növényvédő szert 10%-os töménységben alkalmazva megállapítottuk, hogy a kezelés szignifikáns mértékben csökkentette ($p < 0,05$) az embriók testtömeg értékeit a kontroll csoportban mért értékekhez képest (*1. ábra*). A réz-szulfát 0,01%-os és a BRAVO 500 1%-os koncentrációjú együttes kezelés eredményeként kisebb testtömeg értéket mértünk mind a 0,01%-os réz-szulfáttal, mind a klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 1%-os koncentrációjú készítménnyel egyedileg kezelt csoportokban mért értékekhez képest, de az eltérés statisztikailag nem volt igazolható. A réz-szulfát 0,01%-os és a BRAVO 500 10%-os koncentrációjú együttes kezelés eredményeként az embriók testtömegei csökkentek mind a 0,01%-os réz-szulfáttal, mind a klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 10%-os koncentrációjú készítménnyel egyedileg kezelt csoportokban mért értékekhez képest, a csökkenés azonban nem volt szignifikáns mértékű.

Az egyedi méreghatás és az interakciós vizsgálat során tapasztalt embrió mortalitási adatokat tartalmazó *1. táblázat* eredményei alapján látható, hogy a 0,01%-os koncentrációjú réz-szulfáttal végzett teratológiai vizsgálatban az elpusztult embriók aránya (16%) a kontroll csoportban megfigyelt elhullásokhoz (8%) képest emelkedett. A klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 fungicid egyedi toxicitásának vizsgálatakor az 1% és 10%-os kezelések hatására hasonló mértékben fokozódott az embrió mortalitás, mértékük 16%-os volt. A 0,01%-os réz-szulfát és az 1%, illetve 10%-os BRAVO 500 fungicid együttes méreghatásának vizsgálata során az embrió mortalitás aránya 20% és 18% volt.

1. ábra

Embrionális testtömeg adatok a klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 fungicid és a réz-szulfát egyedi és együttes méreghatásának madárteratológiai vizsgálatában házityúkon



Az azonos betűt tartalmazók egymástól szignifikánsan ($P < 0,05$) nem különböznek.

Figure 1. Body weight of chicken embryos in the teratogenicity test with chlorotalonil containing BRAVO 500 fungicide formulation and copper sulphate after administration as single compounds and in combination

A kontroll és 0,01%-os réz-szulfáttal egyedileg kezelt csoportban nem fordultak elő fejlődési rendellenességet mutató embriók. A klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 1% és 10%-os koncentrációjú készítménnyel végzett egyedi kezelések során mindkét kezelt csoportban az élő embriók közül kettő (2/32, 2/32) mutatott növekedési visszamaradást (1. táblázat). A réz-szulfát 0,01%-os és a BRAVO 500 1% és 10%-os koncentrációjú együttesen kezelt csoportokban 3–3 élő embriónál (3/31, 3/31) tapasztaltunk fejlődési rendellenességet (1. táblázat), a fejlődési rendellenességek típusa növekedési visszamaradás és rendellenes láb volt.

A réz-szulfát-oldat koncentráció-sorozatának (1,0%, 0,1%, 0,01%, 0,001%) házityúk embriókon elvégzett madárteratológiai vizsgálatában – légkamrába történő injektációs kezelés esetében –, Fejes (2005) azt tapasztalta, hogy a 0,01%-os koncentrációjú réz-szulfát-oldat (0,1 ml) hatására az embriók testtömegei szignifikáns mértékben kisebbek voltak, az embrió elhalás és a fejlődési rendellenességet mutató embriók aránya nőtt a kontrollhoz viszonyítva. Különböző réz-sók vemhes hörcsögökön elvégzett teratológiai vizsgálatában megállapították, hogy a réz-szulfát nagy dózisban fokozza a méhen belüli

elhalásokat és a fejlődési rendellenességet mutató embriók arányát, a magzati deformitások közül a szívrendellenességek tekinthetők a rézvegyületek specifikus mérgező hatásának (*Ferm, 1974*).

1. táblázat

A fejlődési rendellenességek és az embrió elhalások számának és arányának alakulása a BRAVO 500 fungicid és a réz-szulfát madárteratológiai vizsgálatában háziyúkon

Kezelt csoportok	(db)		%	
	Rendellenes fejlődésű embriók száma/élő embriók száma	Elpusztult embriók száma/termékeny tojások száma	Rendellenes fejlődésű embriók aránya	Elpusztult embriók aránya
Kontroll	0/34	3/37	0,0	8,1
0,01% réz-szulfát	0/32	6/38	0,0	15,8
1% BRAVO 500	2/32	6/37	6,3	16,2
10% BRAVO 500	2/32	6/38	6,3	15,8
0,01% réz-szulfát és az 1% BRAVO 500	3/31	8/39	9,7	20,5
0,01% réz-szulfát és az 10% BRAVO 500	3/31	7/38	9,7	18,4

Table 1. The number and the rate of developmental anomalies and embryonic mortality in the teratogenicity test of BRAVO 500 fungicide formulation and copper sulphate in chicken embryos

A klórtalonil hatóanyaggal emlősökön elvégzett reprodukciós toxicitási vizsgálatok eredményei kisebb magzati testtömegeket és nagyobb arányú méhen belüli elhalást jeleztek a magasabb dózisoknál (400 és 600 mg/testtömeg kg/nap), azonban sem a külső makroszkópos, sem a zsigeri és csontvázfestéses vizsgálatok nem igazolták a vegyület teratogén hatását (*Farag és mtsai., 2006; WHO, 1996*).

KÖVETKEZTETÉSEK

A kísérletünkben felhasznált testidegen kémiai anyagok (0,01%-os réz-szulfát-oldat, klórtalonil hatóanyagú BRAVO 500 gombaölő szer 1 és 10%-os koncentrációja) egyedi méreghatása embriotoxikus volt a tojásban fejlődő madár szervezetre. Teratogén hatás nem volt igazolható.

Ugyanakkor az együttes méreghatás vizsgálat eredményei alapján az a következtetés vonható le, hogy egy viszonylag alacsony környezeti rézterhelés (mely önmagában kismértékben embriotoxikus lehet) mellett a növényvédelmi gyakorlatban alkalmazott BRAVO 500 gombaölő szeres kezelés additív formában fokozta az embriotoxicitást. Az interakciós toxikológiai vizsgálatának eredményei jelzik a madárembrió fokozott érzékenységét, amely az együttes kezelés hatására felülmúlja az egyedi kezelések toxikus következményeit. Ezek alapján elmondható más szerzők véleményével

összhangban (Várnagy, 1996.; Fejes és mtsai., 2002; Várnagy és mtsai., 2004; Keserű és mtsai., 2005; Várnagy, 2005), hogy az interakciós madárteratológiai vizsgálatok megfelelő érzékenységgel jelzik a testidegen kémiai anyagok együttes expozíciójának eredményeként módosuló egyedi méreghatásokat. Az általunk házityúkon elvégzett madárteratológiai vizsgálatok eredményei felhasználhatóak más madárfajok mérgezési veszélyének jellemzésére (Fejes és mtsai., 2004). Azonban a vadmadár fajok fokozott érzékenységből kifolyólag javasoljuk ugyanezen vizsgálatok vadkacsa, fácán vagy fűj tojásokon történő elvégzését. A vadkacsa tojások méshéjának a tyúktojásoséhoz viszonyított nagyobb fajlagos felülete és pórustérfogata fokozhatja a tojásban fejlődő embriót érő expozíció mértékét (Kertész, 2011). A környezetszennyező nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes hatásainak madárteratológiai vizsgálataiból származó eredmények értékelése nagyban hozzásegíthet ahhoz, hogy a környezeti élőszervezetek védelmét a lehető legmagasabb szinten tudjuk biztosítani.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Jelen cikk a TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KONV-2010-0003 és a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0025 projektek keretében készült. A projektek a Magyar Állam és az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósulnak meg.

IRODALOM

- Baráth Cs., Ittész A., Ugrósd Gy. (1996). Biometria. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 37-217.
- Farag A. T., Karkour T. A., El Okazy A. (2006). Embryotoxicity of oral administered chlorothalonil in mice. Birth Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol. 77. 2. 104-9.
- Fejes S. (2005). Egyes nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes méreghatásának vizsgálata madárteratológiai tesztnben. PhD. értekezés. Veszprémi Egyetem, Keszthely. 39-42.
- Fejes S., Budai P., Molnár T., Keserű M. (2002): Teratogenicity test on an insecticide containing dimethoate and on heavy elements (Cu, Cd) in chicken embryos. Georgikon for Agric., 13. 97-107.
- Fejes S., Budai P., Szabó R., Molnár T. (2004). Eltérő kezelési módok eredményeinek összehasonlítása egy nehézfém és egy peszticid toxikológiai vizsgálatában. Acta Kaposváriensis. 8. 2. 33-40.
- Ferm, V.H., Hanlon, D.P. (1974). Toxicity of copper salts in hamster embryonic development. Biology of Reproduction. 11. 97-101.
- Hoffmann. D.J., Gay. M.L. (1981). Embriotoxic effect of benzo(a)pyrene, chrysene and 7,12-dimethylbenz(a) anthrance in petroleum hydrocarbonmixtures in mallard ducks. J. Toxicol. Environ. Hlth., 7. 777-787.
- Jeng, S.L., Yang, C.P. (1995). Determination of lead, cadmium, mercury and copper concentrations in duck eggs in Taiwan. Poult. Sci., 74. 1. 187-193.
- Kertész V. (2001). Nehézfémek és PAH-vegyületek embrionális fejlődésre gyakorolt hatása madarakon. PhD. értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő. 80.
- Keserű M., Komlósi V., Mink J., Fáncsi T., Szabó R., Juhász É., Tavasz J., Várnagy L. (2005). Két herbicid és egy inszekticid méreghatásának vizsgálata madárembriókban. Acta Kaposváriensis. 9. 1. 1-12.
- Lutz, H., Oterag, Y. (1973). Pesticides teratogenese et surric chez les oiseaux. Arch. Anat. Hist. Embr., 56. 65-68.

- Thompson, H.M. (1996). Interactions between pesticides; A review of reported effects and their implications for wildlife risk assessment. *Ecotoxicology*. 5. 2. 59-81.
- Tullett, S.G. , Deeming, D.C. (1982). The relationship between egg shell porosity and oxygen consumption of the embryo in domestic fowl. *Comp. Biochem. Physiol.*, 72. 529-533.
- Tyler, C. (1955). Studies on egg shells. VI. - The distribution of pores in egg shell. *J. Sci. Food. Agric.*, 6. 170-176.
- Várnagy L. (1996). Növényvédő szerek és a reprodukció kapcsolata. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 51. 421-423.
- Várnagy L., Budai P., Fejes S., Keserű M., Szabó R., Juhász É. (2004). Egyes növényvédő szer hatóanyagok bomlásdinamikája és toxicitása madárembriókban. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 126. 755-760.
- Várnagy L. (2005). Madárembrióteszt alkalmazása a xenobiotikumok ökotoxikológiai vizsgálatában. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 127. 490-494.
- WHO (1996). *Environmental Health Criteria 183: Chlorothalonil*. p. 95.

Levelezési cím (*corresponding author*):

Budai Péter

Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet
University of Pannonia, Georgikon Faculty, Institute for Plant Protection
8360 Keszthely, Deák F. u. 16.
Tel: 36-83-545-226, fax: 36-83-545-212
e-mail:budai-p@georgikon.hu