

Mystic 250 EC gombaölő szer és a kadmium-szulfát egyedi és interakciós toxicitásának vizsgálata madárembriókban

***Szemerédy Géza^{1*}, Kormos Éva¹, Major László¹, Somody Gergő¹, Szabó Rita¹,
Lehel József² és Budai Péter¹***

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

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

*e-mail: tijsvanvervest@gmail.com

Összefoglalás

A tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC gombaölő szer és a környezeti fémterhelést modellező kadmium-szulfát egyedi és interakciós méreghatását tanulmányoztuk fejlődő házityúk-embriókban. Kísérleti anyagként 0,01%-os kadmium-szulfát-oldatot, valamint a MYSTIC 250 EC (250 g/l tebukonazol) 0,1%-os emulzióját alkalmaztuk. A bemerítéses kezelést a keltetés megkezdése előtt, míg a feldolgozását a keltetés 19. napján végeztük el. A kórbonctani vizsgálat során lemértük az embriók testtömegét, rögzítettük az elhalások számát, továbbá feljegyeztük a makroszkópos fejlődési rendellenességeket. A kísérleti anyagokkal elvégzett egyedi és együttes kezelések eredményeként a kezelt csoportokban az embriók testtömeg értékei kisebbek voltak a kontroll csoporthoz viszonyítva, a testtömeg értékek csökkenése minden csoportban szignifikáns mértékű volt, kivéve a kadmium-szulfáttal egyedileg kezelt csoportot. Az embrióletalitás fokozódott a kezelt csoportokban kivéve a növényvédő szerrel egyedileg kezelt csoportot. A különbségek statisztikailag nem voltak igazolhatóak. Kísérletünkben felhasznált 0,01%-os kadmium-szulfát oldat és MYSTIC 250 EC tebukonazol 0,1%-os emulziójának egyedi méreghatása toxikus volt a tojásban fejlődő házityúk-embriókra. A kísérleti anyagok együttes alkalmazása során az embriótoxikus dózisu kadmium-szulfát mellett a növényvédelmi gyakorlatban felhasznált MYSTIC 250 EC gombaölő szeres kezelés fokozta az embriótoxicitást, a toxikus interakció additív jellegű volt.

Kulcsszavak: tebukonazol, kadmium-szulfát, interakció, ökotoxikológia, házityúk-embrió

Abstract

The aim of this study was to determine the individual and combined toxic effects of MYSTIC 250 EC fungicide (tebuconazole, 250 g/l) and cadmium sulphate on the development of chicken embryos. The chicken eggs were dipped in the solution or emulsion of the test materials for 30 minutes before starting of incubation. The applied concentration of cadmium sulphate was 0.01% and of fungicide MYSTIC 250 EC was 0.1%. The chicken embryos were examined on day 19 by the followings: rate of embryo mortality, body mass, type of developmental anomalies by macroscopic examination. The body mass was evaluated statistically by the one-way ANOVA, the embryo mortality and the developmental anomalies were analysed by Fisher test. Our teratogenicity study revealed that the individual toxic effect of cadmium sulphate and tebuconazole containing fungicide formulation (MYSTIC 250 EC) were embryotoxic. Developmental abnormalities were observed sporadically either single or concomitant treatment. Based on the results there is a possibly additive toxic interaction between the cadmium sulphate and MYSTIC 250 EC that can highly reduce the viability of the embryos or can lead to extinction of wild birds.

Keywords: tebuconazole, cadmium sulphate, interaction, ecotoxicology, chicken embryo

Bevezetés

A szintetikus növényvédő szerek az 1950-es években terjedtek el világszerte, és széleskörű, folyamatos alkalmazásuk miatt legtöbbjük mára szinte mindenütt megtalálható a környezetünkben (Köhler és Triebskorn, 2013). A környezetet évszázadok óta károsító ipar mellett az agrokemikáliák felhasználása révén megjelent egy másik szennyezőanyag kibocsátó, a mezőgazdaság is (Bánki, 1976). A vegyszeres növényvédelmi munkák során felhasznált növényvédő szerek a kijuttatás területén, továbbá a kijuttatás területéről elsodródva a nem célszervezeteken is kifejthetik hatásaikat, amelynek következtében a keltetés időszakában a vadon élő madarak tojásaira kerülő permetléből bejutó hatóanyag megzavarhatja az embriók fejlődését (Fejes, 2005). A toxikológia fejlődésének köszönhetően egyre több kutatás, tanulmány látott napvilágot, amelyek a fémek és növényvédő szerek kifejezett toxicitásáról számoltak be. Az eredmények alapján az engedélyező hatóságok számos fémvegyület növényvédelemben való alkalmazását betiltották. Azonban a permanens környezetterhelés miatt az egész bioszféra beszennyeződött. A peszticidek és nehézfémek ökotoxikológiai tesztelése során döntő részben

külön-külön kerülnek tanulmányozásra, ugyanakkor figyelmet kell fordítanunk arra, hogy a vegyi terhelés általában komplex módon jelentkezik, így számolni lehet együttes (interakciós) méreghatással, amelynek következtében a komponensek felerősíthetik vagy gyengíthetik egymás hatását. Az utóbbi időben egyre inkább előtérbe kerül az interakciós hatások tanulmányozása nem csak az ökotoxikológia területén, hanem minden olyan egyéb területen, amely az egészségvédelem és a kémiai biztonság kérdésével foglalkozik (Oskarsson, 1983; Danielsson és mtsai, 1984; Speijers és Speijers, 2004; Youn-Joo és mtsai, 2004). Vizsgálatunkban egy tebukonazol hatóanyagú fungicid (MYSTIC 250 EC) és a környezeti fémterhelést modellező kadmium-szulfát egyedi és együttes méreghatását vizsgáltuk bemelegítési kezelési módot alkalmazva. A gyakorlatban használatos ökotoxikológiai vizsgálati módszerek elsősorban csak az egyedi méreghatás vizsgálatára szorítkoznak, ezért a növényvédő szerek interakciós hatásaira vonatkozó adatok gazdagíthatják a toxikológiai adatbázist.

Anyag és módszer

A környezeti kadmiumterhelés modellezéséhez az egyedi és együttes kezelések során 0,01%-os koncentrációjú kadmium-szulfát-oldatot (Reanal-Ker Kft., Magyarország) használtunk. A 250 g/l tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC (Nufarm Hungária Kft., Magyarország) gombaölő szert, mind az egyedi, mind a kombinációs kezelések során gyakorlati permetlé töménységben (0,1%) alkalmaztuk. A vizsgálatban felhasznált termékeny tyúktojások a Goldavis Kft. (Sármellék, Magyarország) vegyes hasznosítású, Farm fajtájú tenyészetéből (apai és anyai vonal Farm) származtak. A tojások keltetését RAGUS® (Wien, Ausztria) típusú asztali keltetőgépben végeztük. A keltetés ideje alatt gondoskodtunk a megfelelő hőmérsékletről (37-38 °C), a páratartalomról (65-75%) és a tojások naponta történő forgatásáról. A tyúktojásokat (n=40/csoport) a keltetés megkezdése előtt 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 várható kelés előtt 2 nappal, a 19. napon került sor a tojások feldolgozására. A kórbonctani feldolgozás során jegyzőkönyvben rögzítettük az élő embriók testtömegét, az elhalt embriók számát és a makroszkópos magzati deformitásokat. Az élő embriók testtömeg adatainak eloszlását grafikusán Comparison-QuantilePlot-tal ellenőriztük, majd a statisztikai értékelést egytényezős varianciaanalízissel végeztük. Az embriómortalitási adatok és a fejlődési rendellenességek biometria értékeléséhez a Fisher-féle egzakt tesztet használtuk. A statisztikai értékelés során a szignifikancia minimumértékének a $p < 0,05$ szintet tekintettük (Baráth és mtsai, 1996).

Eredmények

A kadmium-szulfát 0,01%-os oldatával történt egyedi bemeztéses kezelés eredményeként a madárembriók testtömeg értékei ($19,62 \pm 1,19$ g) kisebbek voltak a kontroll értékekhez ($20,34 \pm 1,28$ g) viszonyítva, de az eltérés statisztikailag nem volt igazolható. A tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC gombaölő szer egyedi toxicitásának vizsgálatakor a készítményt a növényvédelemben felhasznált töménységben alkalmazva (0,1%), a bemeztéses kezelés eredményeként szignifikánsan ($p < 0,05$) kisebb testtömeg értékeket ($19,33 \pm 1,41$ g) rögzítettünk a kontroll csoportban mért értékekhez ($20,34 \pm 1,28$ g) képest. A kadmium-szulfát és a tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC fungicid együttes méreg hatásának vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az együttes kezelés hatására szignifikáns ($p < 0,001$) mértékben csökkentek az élő embriók testtömegei ($18,77 \pm 1,86$ g) a kontroll csoport adataihoz ($20,34 \pm 1,28$ g) viszonyítva. Hasonlóan, csökkenő tendencia volt megfigyelhető a kadmium-szulfát-oldattal és a MYSTIC 250 EC készítménnyel egyedileg kezelt csoportok testtömeg értékeihez ($19,62 \pm 1,19$ g és $19,33 \pm 1,41$ g) viszonyítva is. Azonban csak a növényvédő szerrel egyedileg kezelt csoportban voltak szignifikáns mértékűek. Az egyedi méreg hatás és az interakciós vizsgálat során tapasztalt embrió mortalitási adatok alapján elmondható, hogy a 0,01%-os koncentrációjú kadmium-szulfáttal egyedileg kezelt csoportban az elpusztult embriók aránya (13,2%) a kontroll csoportban megfigyelt elhullásokhoz (2,6%) képest emelkedett. A tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC gombaölő szer egyedi toxicitásának vizsgálatakor a kezelés hatására nem változott az embrió mortalitás mértéke (2,6%) a kontrollhoz képest. A kadmium-szulfát és a MYSTIC 250 EC fungicid együttes méreg hatásának vizsgálata során az embrió mortalitás aránya 15,8% volt, amely nem bizonyult szignifikáns mértékűnek a kontroll csoporthoz viszonyítva. A kontroll csoportban nem fordult elő fejlődési rendellenességet mutató embrió. A 0,01%-os kadmium-szulfáttal egyedileg kezelt csoportban három rendellenes fejlődésű embriót (növekedési visszamaradás, láb deformitás) rögzítettünk (3/38). A gombaölő szerrel egyedileg kezelt csoportban az élő embriók közül egy embrió mutatott makroszkópos fejlődési rendellenességet (1/38), ennél ödéma volt megfigyelhető a hasi részen. A kadmium-szulfát 0,01%-os oldatával és a MYSTIC 250 EC 0,1%-os koncentrációjú emulziójával együttesen kezelt csoportban három élő embriónál (3/38) tapasztaltunk deformitást, a fejlődési rendellenességek típusa növekedési visszamaradás és fejletlen szemek voltak.

Megvitatás

A 0,01%-os kadmium-szulfát oldattal elvégzett egyedi kezelés eredménye alapján elmondható, hogy a vegyület embriótoxikusnak bizonyult, azonban sem a testtömeg csökkenésénél sem az embriómortalitás fokozódásánál nem volt szignifikáns eltérés a kontroll csoporthoz képest. Fejlődési rendellenességet mutató embriók csak sporadikusan fordultak elő, így teratogén hatás nem jelentkezett. Korábban Szabó és mtsai. (2011) injektálásos módszert alkalmazva azt tapasztalták, hogy a 0,01%-os kadmium-szulfáttal elvégzett kezelés eredményeként a házityúk-embriók testtömege szignifikánsan csökkent, az embriómortalitás pedig szignifikánsan fokozódott, a fejlődési rendellenességek előfordulása gyakorisága azonban szignifikánsan nem különbözött a kontrolltól. A tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC fungicid 0,1%-os emulziója embriótoxikusnak bizonyult, amely elsősorban a szignifikáns testtömeg-csökkenésben nyilvánult meg. Embriómortalitást, illetve fejlődési rendellenességet mutató egyedek csak sporadikusan fordultak elő. Giavini és Menegola (2010) különböző *in vivo* toxikológiai állatkísérlet alapján megállapították, hogy számos azol típusú fungicid képes teratogén hatás kiváltására, amely a koponya, a gerinc és a végtagok torzfejlődésében nyilvánult meg. A 0,01%-os kadmium-szulfáttal és a 0,1%-os MYSTIC 250 EC fungiciddal elvégzett kombinációs kezelések eredményei alapján szignifikáns testtömeg-csökkenést tapasztaltunk a kontroll csoporthoz képest. Embriómortalitást, illetve fejlődési rendellenességet mutató egyedek száma nőtt a kontroll csoporthoz viszonyítva, előfordulásuk azonban statisztikailag nem volt igazolható. Az interakciós kezelések embriótoxikusak voltak, teratogén hatás nem volt igazolható. Azonban a madárfajok között megnyilvánuló érzékenységbeli különbségekből adódóan javasoljuk ugyanezen vizsgálatok vadkacsa vagy fácán tojásokon történő elvégzését. A vadkacsa tojások méshéjának a tyúktojáshoz viszonyított nagyobb fajlagos felülete és pórustérfogata fokozhatja a tojásban fejlődő embriót érő expozíció mértékét (Kertész, 2001). Az együttes méreghatás additív formában nyilvánult meg. Kutatási eredmények szerint a növényvédő szerek kombinációi általában fokozzák, sőt egyes esetekben akár jelentősen növelhetik az összetevők méreghatását, ezáltal természetesen felhasználásuk is kockázatos. Ezek a hatások faj-, idő-, illetve dózisfüggőek, ezért meglehetősen nehéz előre jelezni a potenciális károsító hatást (Thompson, 1996).

Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Hivatkozások

- Bánki L. 1976. Egy peszticid kifejlesztése, mint komplex tudományos feladat. Medicina könyvkiadó, Budapest. 17,18, 27.
- Baráth Cs., Ittész A., Ugrósy Gy. 1996. Biometria. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 37-217.
- Danielsson, B. R. G., Oskarsson, A., Dencker, L. 1984. Placental transfer and fetal distribution of lead in mice after treatment with dithiocarbamates. Arch. Toxicol., 55. 27-33.
- Fejes S. 2005. Egyes nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes méreg hatásának vizsgálata madárteratológiai tesztben, Doktori Értekezés, Veszprémi Egyetem, Keszthely. 83-84.
- Giavini E., Menegola E. 2010. Are azole fungicides a teratogenic risk for human coceptus? Toxicology Letters 198. 106-111.
- Kertész V. 2001. Nehézfémek és PAH-vegyületek embrionális fejlődésre gyakorolt hatása madarakon. PhD. értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő. 80.
- Köhler, H. R., Triebskorn, R. 2013. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can wet rack effects to the population level and beyond? Science 341. 759-765.
- Oskarsson, A. 1983. Redistribution and increased brain uptake of lead in rats after treatment with dethyldithiocarbamate. Arch. Toxicol., 6. 279-284.
- Speijers, G. J. A., Speijers, M. H. M. 2004. Combined toxic effects of mycotoxins. Toxicology Letters, 153. 91-98.
- Szabó R., Budai P., Lehel J., Kormos É., 2011. Toxicity of S-metolachlor containing formulation and heavy metals to chicken embryos. Comm. Agr. Appl. Biol. Sci., Ghent University, 76. 931-938.
- Thompson, H. M. 1996. Interaction between pesticides; Are view of reported effects and the irimplications for wildlife risk assestment. Ecotoxicology, 5. 59-81.
- Youn-Joo A., Young-Mi K., Tae-Im K., Seung-Woo J. 2004. Combined effect of copper, cadmium, and lead upon *Cucumissativus* growth and bioaccumulation. Science of The Total Environment, 326 1-3. 85-93.