

Tebukonazol hatóanyagú (Mystic 250 EC) gombaölő szer és a réz-szulfát egyedi és együttes méreghatásának teratológiai vizsgálata házityúk-embriókban

***Budai Péter^{1*}, Kormos Éva¹, Szemerédy Géza¹, Somody Gergő¹, Szabó Rita¹,
Gombai Dorina¹ és Lehel József²***

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

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

**e-mail: budai-p@georgikon.hu*

Összefoglalás

Vizsgálatunkban fejlődő házityúk-embriókon tanulmányoztuk a tebukonazol hatóanyagú Mystic 250 EC gombaölő szer és a réz-szulfát egyedi és együttes méreghatását. Kísérleti anyagként 0,01%-os réz-szulfát-oldatot és a Mystic 250 EC (250 g/l tebukonazol) fungicid 0,1%-os emulzióját alkalmaztuk. A bemeztetéses kezelések elvégzésére a keltetés megkezdése előtt, a tojások feldolgozására a keltetés 19. napján került sor. A kórbonctani vizsgálat során lemértük az élő embriók testtömegét, feljegyeztük az elhalások számát és a makroszkópos fejlődési rendellenességeket. A statisztikai vizsgálat alkalmával a testtömeg adatokat egytényezős varianciaanalízissel, az embriómortalitás mértékét és a fejlődési rendellenességek gyakoriságát Fisher-féle egzakt teszttel értékeltük. A kísérleti anyagokkal elvégzett egyedi és együttes kezelések során, a kezelt csoportokban az embriók testtömeg értékei kisebbek voltak a kontroll értékekhez viszonyítva, de statisztikailag csak a Mystic 250 EC-vel egyedileg, valamint a kísérleti anyagokkal együttesen kezelt csoportokban volt ez igazolható. Az embrióletalitás mértéke egyetlen kezelt csoport esetében sem tért el a kontrolltól. A makroszkópos fejlődési rendellenességek előfordulási gyakorisága sporadikus jellegű volt valamennyi kezelt csoportban. A kísérletünkben felhasznált 0,01%-os réz-szulfát-oldat és a 0,1%-os Mystic 250 EC fungicid egyedi méreghatása kismértékben embriótoxikus volt a tojásban fejlődő házityúk embriókra. Teratogén hatás nem volt igazolható. A kísérleti anyagok együttes alkalmazása során az önmagában kismértékben embriótoxikus rézterhelés mellett a növényvédelmi gyakorlatban alkalmazott Mystic 250 EC fungicides kezelés nem fokozta az embriótoxikus hatást.

Kulcsszavak: tebukonazol, réz-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 copper 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 copper sulphate was 0.01% and of fungicide Mystic 250 EC was 0.1%. The chicken embryos were examined on day 19 by the followings: body mass, rate of embryo mortality, 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 copper sulphate and tebuconazole containing fungicide formulation (Mystic 250 EC) were embryotoxic but not teratogenic in chicken. The combined administration of Mystic 250 EC and copper sulphate did not increase the embryotoxic effect.

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

Bevezetés

Napjainkban a mezőgazdasági termelésnek az élelmiszer-előállításán túl kiemelt figyelmet kell fordítania az élővilágot érő környezetterhelés csökkentésére, illetve elkerülésére. A növényvédő szerek a gyakorlati alkalmazásuk következtében megváltoztatják az élőszervezetek kémiai környezetét és ezzel megteremtik a mérgezés lehetőségét. A vadmadarak 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 érvényesülhet, hanem a különböző xenobiotikumok együttes mérgeghatása révén megváltozhat azok egyedi toxicitása, mely gyakran eredményezi a károsító hatások fokozódását (Thompson, 1996). A madárteratológiai vizsgálatok során alkalmazott bemerítéses 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).

Vizsgálatunkban egy tebukonazol hatóanyagú gombaölő szer (Mystic 250 EC) és a környezeti fémterhelést modellező réz-szulfát egyedi és együttes méreghatását vizsgáltuk bemeztéses kezelési módot alkalmazva. A gyakorlatban használatos ökotoxikológiai vizsgálati módszerek elsősorban csak az egyedi méreghatás vizsgálatára szorítkoznak, ezért a növényvédő szerek interakciós hatásaira vonatkozó adatok, különösen madárszervezetben, hiánypótlónak tekinthetők.

Anyag és módszer

A környezeti rézterhelés modellezéséhez az egyedi és együttes kezelések során 0,01%-os koncentrációjú réz-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 (2%) 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 (37,5-38 °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 oldatba vagy emulzióba, 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 fejlődési rendellenességeket. Az élő embriók testtömeg adatainak eloszlását grafikusán Comparison-Quantile Plot-tal ellenőriztük, majd a statisztikai értékelés egytényezős varianciaanalízissel történt. Az embriómortalitási adatok és a fejlődési rendellenességek biometria értékeléséhez a Fisher-féle egzakt tesztet alkalmaztuk. A statisztikai értékelés során a szignifikancia minimumértékének a $p < 0,05$ szintet tekintettük.

Eredmények

A réz-szulfát 0,01%-os oldatával történt egyedi bemerítéses kezelés eredményeként a madárembriók testtömeg értékei ($20,01 \pm 1,32$ 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 vizsgálatokor a készítményt a növényvédelemben felhasznált töménységben alkalmazva, a bemerítéses kezelés eredményeként szignifikánsan ($p < 0,05$) kisebb testtömeg értékeket ($19,33 \pm 1,41$ g) mértünk a kontroll csoportban mért értékekhez ($20,34 \pm 1,28$ g) képest. A réz-szulfát és a Mystic 250 EC fungicid együttes méreghatásának vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az együttes kezelés hatására szignifikáns ($p < 0,01$) mértékben csökkentek az élő embriók testtömegei ($19,26 \pm 1,44$ g) a kontroll csoport adataihoz ($20,34 \pm 1,28$ g) viszonyítva. Hasonló csökkenő tendencia volt megfigyelhető a réz-szulfát-oldattal és a Mystic 250 EC növényvédő szerrel egyedileg kezelt csoportok testtömeg értékeihez ($20,01 \pm 1,32$ g, $19,33 \pm 1,41$ g) viszonyítva. Az eltérések azonban nem voltak szignifikáns mértékűek. Az egyedi méreg hatás és az interakciós vizsgálat során tapasztalt embrió mortalitási adatok alapján elmondható, hogy az embrió letalitás mértéke egyetlen kezelt csoport esetében sem tért el a kontrolltól, ahol az elpusztult embriók aránya 2,6% volt.

A kontroll csoportban nem fordult elő fejlődési rendellenességet mutató embrió. A 0,01%-os réz-szulfáttal egyedileg kezelt csoportban egy rendellenes fejlődésű embriót (növekedési visszamaradás) figyeltünk meg (1/37). A tebukonazol hatóanyagú Mystic 250 EC készítménnyel egyedileg kezelt csoportban az élő embriók közül egy embrió mutatott makroszkópos fejlődési rendellenességet (1/37), amelynek típusa görbült láb volt. A réz-szulfát 0,01%-os oldatával és a Mystic 250 EC 0,1%-os koncentrációjú emulziójával együttesen kezelt csoportban két élő embriónál (2/37) detektáltunk fejlődési rendellenességet, a malformáció típusa növekedési visszamaradás és görbült láb volt.

Megvitatás

A kísérletünkben felhasznált 0,01%-os réz-szulfát-oldat egyedi méreg hatása embriótoxikus volt a tojásban fejlődő házityúk szervezetre, amely elsősorban az élő embriók kezelés hatására bekövetkezett testtömeg-csökkenésében nyilvánult meg, teratogén hatás azonban nem volt megfigyelhető, mivel fejlődési rendellenességet mutató embrió csak sporadikusan fordult elő.

Korábban Szabó és mtsai. (2011) hasonló eredményekről számoltak be. A 0,01%-os réz-szulfáttal elvégzett kezelés hatására a házityúk-embriók testtömege szignifikánsan csökkent, a fejlődési rendellenességek előfordulása azonban szignifikánsan nem tért el a kontroll értékektől.

Ferm (1974) munkatársával megállapította, 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.

Kísérletünkben a tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC fungicid 0,1 %-os emulziója embriótoxikusnak bizonyult, amely elsősorban szignifikáns testtömeg-csökkenésben nyilvánult meg. Az embrióelhalás mértéke azonos volt a kontroll csoportban megfigyelttel, fejlődési rendellenességet mutató embrió csak sporadikusan fordult elő, így teratogén hatás nem volt igazolható.

Giavini és Menegola (2010) a mezőgazdaságban és a humán gyógyászatban gombaölő szerként alkalmazott azol-származékok toxikológiai állatkísérleti eredményeik alapján megállapították, hogy a különböző azol fungicidek nagy dózisban teratogén hatásúak, arc, csontváztengely és végtag rendellenességek kialakulását eredményezik.

A kísérleti anyagok együttes alkalmazása során az önmagában kismértékben embriótoxikus rézterhelés mellett a növényvédelmi gyakorlatban alkalmazott Mystic 250 EC fungicides kezelés nem fokozta az embriótoxikus hatást. Az általunk házityúkon elvégzett madárteratológiai vizsgálat eredményei felhasználhatóak a környezeti kockázatbecslés alkalmával a vadmadarak mérgezési veszélyének jellemzésére. 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). 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

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

- Ferm V. H., Hanlon D. P. 1974. Toxicity of copper salts in hamster embryonic development. *Biology of Reproduction*, 11. 97-101.
- Giavini E., Menegola E. 2010. Are azole fungicides a teratogenic risk for human conceptus? *Toxicology Letters*, 198. 106-111.
- 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.
- Lutz H., Oterag Y. 1973. Pesticides teratogenese et surric chez les oiseaux. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, 56. 65-68.
- Szabó R., Budai P., Lehel J., Kormos É. 2011. Teratogenicity study of some pesticide in chicken embryos. *Comm. Agr. Appl. Biol. Sci. Ghent Univ.*, 69/4. 803-806.
- Thompson H. M. 1996. Interactions between pesticides; A review of reported effects and their implications for wildlife risk assessment. *Ecotoxicology*, 5. 2. 59-81.