

# Animal welfare, etológia és tartástechnológia



## Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 5

Issue 4

Különszám

Gödöllő  
2009



## AZ IKRAKELTETÉS SORÁN ALKALMAZOTT MALACHITZÖLD EGYÉB KÁROSÍTÓ HATÁSAI, VALAMINT ALTERNATÍV HELYETTESÍTÉSI LEHETŐSÉGE A HALTENYÉSZTÉSSEN

Mészáros Erika<sup>1</sup>, Hegyi Árpád<sup>1</sup>, Csenki Zsolt<sup>1</sup>, Kovács Róbert<sup>1</sup>, Lefler Kinga Katalin<sup>1</sup>,  
Dankó István<sup>2</sup>, Urbányi Béla<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Környezet- és Tájgazdálkodási  
Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, 2103 Gödöllő, Páter Károly u. 1.

<sup>2</sup>Aranykárász Bt, Szarvas

[Meszaros.Erika@mkk.szie.hu](mailto:Mesaros.Erika@mkk.szie.hu)

### Összefoglalás

A tógazdasági haltermelés különösen fontos mozzanata a halak keltetőházi szaporítása. A halak ikrája magas fehérje- és zsírtartalmú, ezért ideális táplálékul szolgálhatnak a vízben élő mikroorganizmusok számára. A kórokozók felszaporodásához különösen alkalmasak a termékenyítetlen ikraszemek, mert képtelenek ellenállást tanúsítani velük szemben. Nagymértékű felszaporodásukkal pedig a termékenyített ikraszemeket is veszélyeztetik. Ennek elkerülésére az ikrakeltetés folyamán minden esetben fertőtlenítőszer alkalmaznak, melyek a vízben élő mikroorganizmusokat válogatás nélkül elpusztítják. Így képesek az olyan károk megelőzésére is, melyeket a *Saprolegnia* okozott korábban az ikratételekben. A leggyakrabban alkalmazott fertőtlenítőszer a malachitzöld. Ezt a vegyszert a haltermelés minden további lépéséből kizárták, mert akkumulálódik a halak szervezetében, és így az azt elfogyasztó emberre is káros hatással bír.

Az első vizsgálat során a zebradánió, mint modellálaton kívántuk szemléltetni, hogy a keltetőből a természetbe kijutó malachitzöld milyen romboló hatást fejthet ki. A gyakorlatban ugyan csak néhány percig érintkezik ez a vegyszer a termékenyített ikrákkal, azonban a fertőtlenítés végén a keltetővíz a természetbe kikerülve folytathatja károsító hatását.

Kísérleteinkben kifejlett zebradánió egyedekben (AB vonal), és embriókban vizsgáltuk a különböző töménységű malachitzöld oldatok hatását. Az adult egyedeken a vizsgálatokat az OECD 203 nemzetközi szabvány szerint végeztük el, aminek eredményeként megkaptunk a félhalálos koncentráció (LC50)



értékét. Ez az érték  $LC_{50}$  zebra danió=0,17857 mg/l malachitzöldre. Az embriókkal végzett kísérletet pedig az OECD-FET teszt szerint végeztük el.

Kísérleteink második részében az Effektív Mikroorganizmus-keveréket (EM), mint lehetséges helyettesítőt próbáltuk ki három – gazdaságilag jelentős - halfaj szaporítása során. Ezen mikroorganizmus keverék előnye a malachitzölddel szemben, hogy a kórokozók életfeltételeit szünteti meg a keltetővízben, tehát a hasznos szervezetek életben maradnak.

**Kulcsszavak:** Effektív Mikroorganizmusok (EM), malachitzöld, halszaporítás

## **Damaging effects of malachite green applied during incubation of eggs and its alternative replacement potentials in fish production**

### **Abstract**

A most important part of pond fish production is hatchery reproduction of different species. Fish egg has a high protein and fat content so it can serve as an ideal feed for microorganisms in water. Unfertilized eggs are especially suitable for the proliferation of different causative agents since they are unable to defend against them. A remarkable proliferation of these agents can then threaten fertilized eggs, too. To avoid it disinfectants are used in all cases of incubation which then indiscriminately devastate microorganisms in water. This way they are able to anticipate damages in egg batches formerly caused by *Saprolegnia*. The most frequently used disinfectant is malachite green. This chemical was excluded from all other steps of fish production since it accumulates in fish body and so it can have a damaging effect on human consumers, too.

In the first experiment we wanted to examine on zebra fish as a model animal the destructive effects of malachite green moving out from the hatchery into nature. Though in practice this chemical consorts with fertilized eggs only for a few minutes but at the end of disinfection incubation water is moved out to nature and so it is able to continue its damaging effects.

In our experiments the effect of different doses of malachite green solutions were examined on adult (AB line) and embryonic zebra fish. In adult fish experiments were made in accordance with OECD 203 international standards and as a result we gained a value for semi-lethal concentration ( $LC_{50}$ ):  $LC_{50}$  zebra fish=0,17857 mg/l for malachite green. Research on embryos was done in accordance with OECD-FET test.

In the second part of our experiments a mixture of Effective Microorganisms (EM) as a possible alternative was applied in the propagation of three economically important fish species. An advantage of



this mixture of microorganisms contrary to malachite green is that it abolishes the living conditions of causative agents in the incubation water so that beneficial organisms are able to survive.

**Keywords:** Effective Microorganisms (EM), malachite green, fish breeding

## Bevezetés

A haltenyésztők az ikrainkubáció során minden esetben fertőtlenítőszereket alkalmaznak, aminek segítségével a vízi kórokozók kártételét képesek megakadályozni. A leggyakrabban alkalmazott fertőtlenítőszer a malachitzöld (Horváth és Urbányi, 2000), amely az elfolyóvízzel a természetbe is kikerülhet, és ott folytathatja romboló hatását. A FAO/WHO-bizottság ez a vegyszert a „feltételezhetően veszélyes” szerek közé sorolta, és megindult a kutatás abban a vonatkozásban, hogy a szer bekerülhet-e a fürdetést követően az élelmiszerekbe. A Német Szövetségi Köztársaságban 1984-ben ennek a lehetőségét megállapították, és 1985-ben pl. véletlenszerűen vett 68 árupusztráng-minta közül 17-ben a malachitzöld-maradékot ki is mutatták (Szakolezai és Csaba, 1989).

Az első célkitűzésünk az volt, hogy nemzetközi szabvány szerint vizsgáljuk a malachitzöld toxicitását és meghatározzuk az LC<sub>50</sub> értékét adult zebradánió egyedekre.

Célul tűztük ki továbbá, hogy a veszélyes malachitzöld helyett Teruo Higa, Japán kutatóprofesszor által kifejlesztett Effektív Mikroorganizmus-keveréket (EM) használjuk az ikrakeltetés során. Az EM tartalmaz fotoszintetizáló baktériumokat, tejsavbaktériumokat, élesztőt, *Actinomyces* gombát, valamint fermentáló gombákat nagy fajgazdagságban és megfelelő arányban (Higa, 2007).

A mikroorganizmusok kedvező hatásai 3 alapelven nyugszanak: a kiszorítás - a kedvezőtlen vagy kórokozó hatású mikroorganizmus kiszorítása, a dominancia - mikroflóra működésének áthangolásával rothadás helyett erjedés megy végbe a bioaktív anyagok termelése - antioxidánsok, vitaminok termelése, amely segíti a hasznos szervezetek működését (Higa, 2007).

Ennek előnye a malachitzölddel szemben, hogy nem kiírtja a vízben élő mikroorganizmusokat, hanem a kórokozók életfeltételeit szünteti meg, a hasznos szervezetek azonban megmaradnak (Higa, 2007). Vizsgálataink elsődleges célja annak kiderítése volt, hogy az EM bír-e bármilyen negatív hatással az ikrákra az inkubáció folyamán.



## **Anyag és módszer**

### ***A zebradánióban végzett vizsgálatok***

A adult zebradánió egyedek vizsgálatát az OECD 203 nemzetközi szabvány szerint végeztük el, az embriók vizsgálatokor pedig az OECD – FET teszt útmutatása alapján jártunk el. Ezen szabványok szerint a tesztek érvényesek voltak.

### ***Az afrikai harcsa szaporítása***

A szaporításra 9 db ikrás afrikai harcsa egyedet használtunk fel. A termékenyítés után a homogenizált ikratételből mindegyik 7 literes keltető ládába 100 g-ot helyeztünk. A keltető ládák vizében légpumpával biztosítottuk a megfelelő oxigén mennyiséget és az ikrák mozgását. A keltető ládába az EM mikróbakeveréket három különböző koncentrációban adagoltuk: 1.000X, 10.000X, 100.000X-es hígításban. A vizsgálatokat három ismétlésben végeztük.

### ***A ponty és a lesőharcsa szaporítása***

Az Aranykárász Bt. ördöngösi keltetőjében a termelési szerkezetbe illesztett alkalmával 24 ponty, és 7 lesőharcsa ikrás egyedet használtunk. Termékenyítés és duzzasztás után a homogenizált ikratételekből ponty esetén 400-400 ml, lesőharcsa esetén pedig 100-100 ml termékenyített ikrát helyeztünk el egy-egy egyenként 7 literes Zuger-üvegbe. A vizsgálatban 4 db Zugert használtunk, melyek közül egy kontroll volt, a többi üvegben pedig különböző koncentrációban –hasonlóan az afrikai harcsánál– alkalmaztuk a keveréket. Mivel a célunk az volt, hogy az EM folyékony fázisa mindvégig a keltetővízben maradjon, ezért nem alkalmaztunk vízátfolyást, és az ikrák számára az oxigénellátást porlasztókkal biztosítottuk, amelyek biztosították az ikrák mozgását is.

### ***Alkalmazott matematikai és statisztikai módszerek***

A statisztikai értékelést GraphPad Prism 4.0 for Windows programmal végeztük. A különböző hígítási csoportok közötti különbségeket egyszempontos variancia-analízissel vizsgáltuk (ANOVA)  $P \leq 0,05$  szignifikancia-szint mellett.

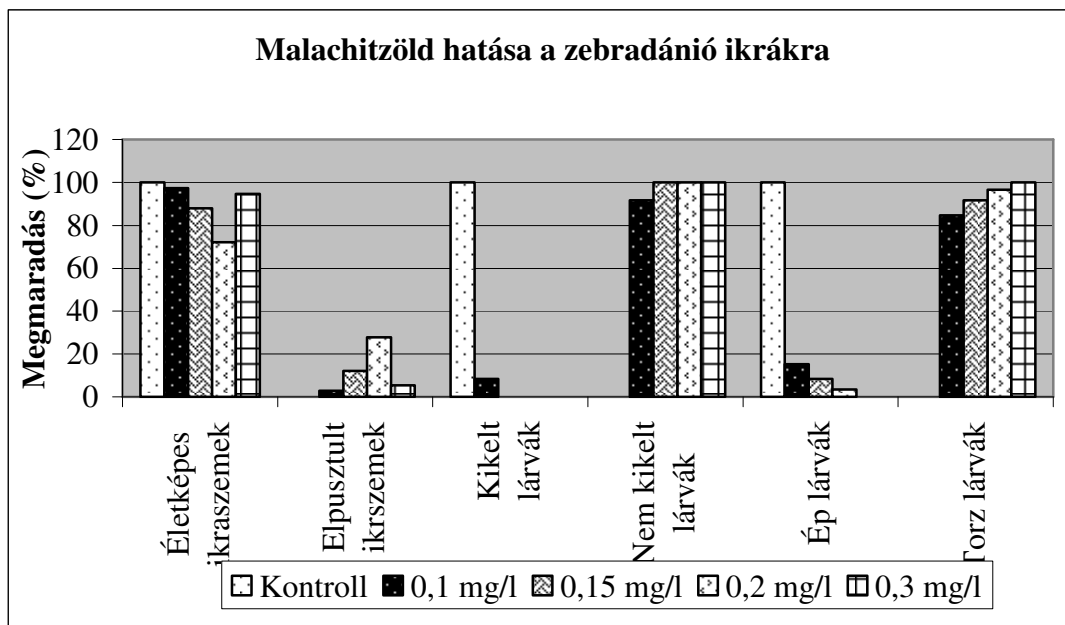
## **Eredmények és értékelés**

### ***A malachitöld hatása zebradánió halfajban***

Az előkísérletben az 1000 mg/l-es dózistól a 0,4 mg/l-es dózsig valamennyi állat elpusztult a malachitöld hatására. A 0,2 mg/l-es koncentrációnál maradt élő egyed, a legkisebb alkalmazott dózis

esetén az állomány 100%-a megmaradt. A kontroll egyedekhez hasonlóan a három legkisebb dózisban (0,125 mg/l, 0,1 mg/l, 0,05 mg/l) 96 óra elteltével nem volt pusztulás. A 0,15 mg/l-es dózisonál 71 %, a 0,175 mg/l-es koncentrációnál pedig 57 %-os volt a megmaradás. A két legnagyobb dózisban alkalmazott malachit esetén 7 %-os megmaradást tapasztaltunk. A malachitzöld félhalálos koncentrációja zebra-dánió halfajban 0,17857 mg/l volt.

A malachitzöld hatását zebra-dánió ikrákban is vizsgáltuk, melyet a 1. ábrán mutatunk be.



1. ábra: Malachitzöld hatása a zebra-dánió ikrákra

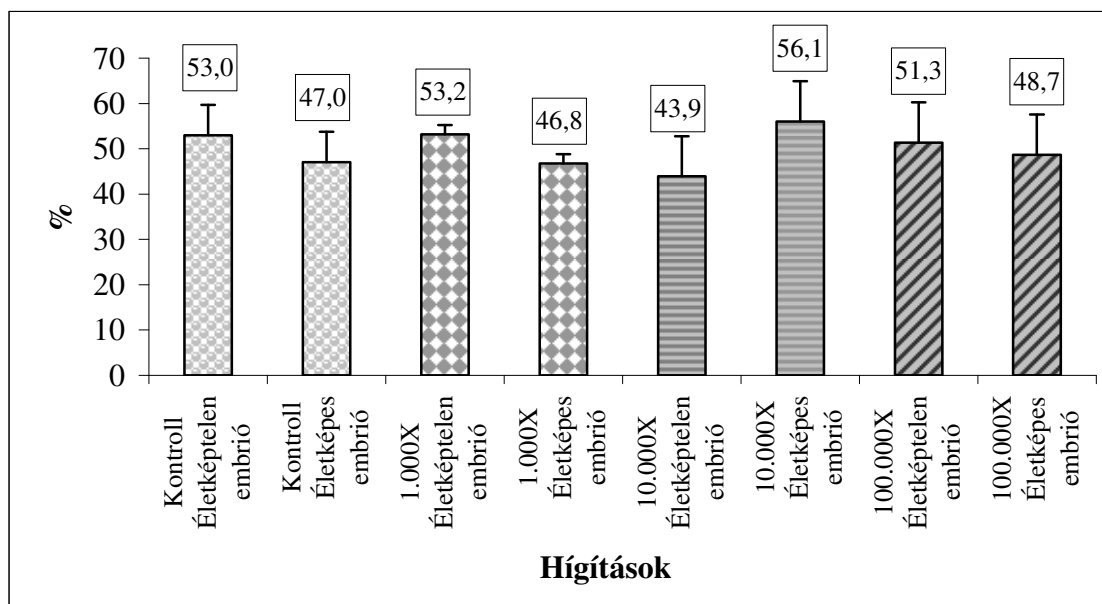
Figure 1. Effect of malachite green on the eggs of zebrafish

Az életképes valamint az elpusztult ikraszemek százalékos arányának vizsgálatok a legkisebb (0,1 mg/l) koncentrációnál pusztult el a legkevesebb ikraszem, és érdekes, hogy nem a legnagyobb dózis alkalmazásakor kaptuk a legtöbb életképtelen embriót. A kelési százalék vizsgálatának eredménye: a kontroll csoportot kivéve csak a 0,1 mg/l-es dózisban találtunk kelő ivadékokat (8,33 %), a többi koncentrációban a kelés 0 %-os volt. A harmadik vizsgált paraméter a fenotípusos tulajdonság volt. A torz lárvák aránya minden egyes kezelés alkalmával 80 % felett alakult, a három legnagyobb dózist tekintve pedig a 90 %-ot is meghaladta. A fenotípusosan torz lárvák általánosan szikódémások voltak és a legtöbb esetben a pigmentáció sem indult meg.

#### Az afrikai harcsa szaporítása során elért eredmények

Az ismétlések átlagának vizsgálatok a következő eredményeket kaptuk (2. ábra). A kontroll, az 1.000X-es valamint a 100.000X-es hígításban használt EM mikróbakeverék esetén az életképtelen

embriók aránya volt nagyobb, de ezek szignifikánsan nem tértek el egymástól ( $P>0,05$ ). A 10.000X-es hígítás alkalmazásakor az életképes embriók aránya (56,06 %) volt nagyobb. Az összes csoportot figyelembe véve itt találtuk a legnagyobb különbséget a kelési átlagokat tekintve. Ez a pozitív hatás sem volt statisztikailag igazolható különbség az előzőekhez hasonlóan ( $P>0,05$ ).



**2. ábra: Az életképtelen és az életképes embriók arányának átlagai afrikai harcsa esetén**

Figure 2. Mean of the rate of the capable and incapable of living embryo in african catfish

### **A ponty szaporítása során elért eredmények**

A ponty szaporításakor a termékenyülés 94 %-os volt. Az extrém keltetési mód hatására csökkent az életképes ikraszemek aránya. Keléskor, 48 órával az ikrák Zuger-üvegbe helyezése után (amikor már a gerinc kialakult) az életképtelen és az életképes ikraszemek %-os arányát vizsgáltuk. Minden egyes koncentrációban használt EM elérte a kontroll csoport eredményeit (77,29 %) és egy esetben jelentős mértékben meghaladta azt. Abban a Zuger-üvegben, amelyben 10.000X-es hígításban használtuk a mikrobás készítményt, kiemelkedő eredményt kaptunk, hiszen az ép ikraszemek aránya több mint 85 % volt.

### **A lesőharcsa szaporítása során elért eredmények**

A lesőharcsa szaporításakor a termékenyülés 97 %-os volt. Az 1.000X-es valamint a 100.000X-es hígításban hasonló eredményeket (76 % és 73 %) kaptunk a kontrollhoz viszonyítva (75 %) az életképes embriókat tekintve. Valamelyest magasabb kelési eredményeket kaptunk a 10.000X-es hígítás alkalmazásakor (83 %).



## Következtetések és javaslatok

A malachitzölddel végzett kísérleteink végén megállapítottuk a félhalálos koncentráció értékét zebraadánió halfajon ( $LC_{50\text{zebraadánió}} = 0,17857$  mg/liter). Ez a koncentráció jól mutatja, hogy mennyire veszélyes vegyszerrel dolgoznak a szakemberek az ikrainkubáció folyamán, és hogy nagy körültekintésre van szükség a használata során. Továbbá megállapítást nyert a malachitzöld torz fejlődést okozó hatása is. Az Effektív Mikroorganizmusokkal végzett vizsgálataink során a legtöbb életképes embriót a 10.000X-es hígítású Effektív Mikroorganizmus-keverék eredményezte. A 10.000X-es hígítás során kapott több életképes embrió statisztikailag kimutatható különbséget nem mutatott a kontroll vagy a többi hígításhoz viszonyítva, de elmondható, hogy az afrikai harcsánál 9 %, pontynál 7 % a lesőharcsánál 8 %-kal több lárva maradt életben a kontrollhoz képest.

Az afrikai harcsa esetében három ismétlés átlagából tudunk eredményeket levonni, a ponty és lesőharcsa tekintetében csak egy-egy vizsgálatot tudunk elvégezni. Következésképp elmondhatjuk, hogy afrikai harcsánál ez a módszer bizonyítottan hatásos a keltetésben, amit érdemes lenne nagyobb, gazdasági méretekben is megvizsgálni.

## Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Dr. Müller Tamásnak a technikai munkákban nyújtott segítségét.

## Irodalomjegyzék

- Higa T. (2007): Forradalom a Föld megmentéséért. (Effektív Mikroorganizmusokkal (EM) oldjuk meg Földünk problémáit). Agroinform Kiadó és Nyomda Kft., Budapest, 61-94.
- Szakolezai J., Csaba Gy. (1989): Tegnap. Ma! Holnap? Malachitzöld. *Halászat*, 35 (82) 118.
- Horváth L., Urbányi B. (2000): A hazánkban tenyésztett halfajok. In: Halbiológia és Haltenyésztés, Horváth L. (szerk). Mezőgazda Kiadó, Budapest, 229-330.