

РЫБОХОЗЯЙСТВЕННАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 574.64:632.95:595.324

**ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФУНГИЦИДОВ
КЛАССА КАРБОКСАМИДОВ НА ПРЕСНОВОДНОГО РАЧКА
*DAPHNIA MAGNA***

© 2020 г. Е. А. Федорова, О. А. Зинчук

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
(ВНИРО), Москва, 107140

Азово-Черноморский филиал Всероссийского научно-исследовательского института
рыбного хозяйства и океанографии (АзНИИРХ), г. Ростов-на-Дону, 344002
e-mail: fedorova _ e _ a@azniirkh.ru

Поступила в редакцию 14.10.2019 г.

Представлены материалы по воздействию двух фунгицидов класса карбоксамиды — Биксафен и Пенфлюфен на зоопланктонные организмы — дафнии (*Daphnia magna* Straus). Выявлено, что для зоопланктонных организмов Пенфлюфен — среднетоксичен, Биксафен — особотоксичен. Изучено действие карбоксамидов на биологические показатели кладоцер с целью установления порогов чувствительности к действию фунгицидов. Отмечено снижение выживаемости, плодовитости, численности и биомассы популяции дафний при увеличении концентраций фунгицидов в растворах. Показано, что при попадании в воду рыбохозяйственных водоемов Биксафена в концентрациях выше 0,00005 мг/л может быть опасен для представителей зоопланктона, в то время как Пенфлюфен менее опасен.

Ключевые слова: дафнии, *Daphnia magna* Straus, фунгициды, токсичность, выживаемость, плодовитость, численность, биомасса, возрастной состав.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных тенденций в технологиях защиты растений в XXI столетии является снижение химической нагрузки на окружающую среду за счет создания пестицидных препаратов новых поколений с новыми механизмами действия и малыми нормами расхода. Почти все новые пестициды обладают нестандартными механизмами действия и могут использоваться в интегрированных системах защиты растений для преодоления резистентности (Грапов, Козлов, 2003; Захаренко, 2000). В Российской Федерации отмечена тенденция увеличения использования высокоактивных пестицидов с низкими нормами расхода, наносящих минимальный ущерб окружающей среде (Ильницкая и др., 2001).

В настоящее время в мировое сельскохозяйственное производство введены

инновационные фунгициды из класса карбоксамидов (биксафен, пенфлюфен, этабоксам, боскалид, флуопирам, ипродион и др.). Современные карбоксамиды эффективно контролируют широкий спектр грибковых заболеваний растений, и, кроме того, при минимальных объемах применения, благоприятно воздействуют на физиологию растений, улучшая их выживаемость, способствуют эффективному росту урожайности (Захаренко, 2008).

Целенаправленный синтез и внесение современных фунгицидов в окружающую среду может привести к их циркуляции и накоплению в биосфере. При этом, современные данные, оценивающие токсическое воздействие фунгицидов новых химических классов на живые организмы, в том числе и на гидробионты, очень ограничены, а в некоторых случаях практически отсутствуют.

Результаты мониторинговых исследований на Азово-Черноморском бассейне последних лет свидетельствуют о том, что в воде, донных отложениях и тканях промысловых рыб обнаруживаются некоторые представители карбоксамидных фунгицидов, что свидетельствует об использовании их в сельском хозяйстве Ростовской области и Краснодарского края.

Тем не менее, с точки зрения рыбохозяйственной токсикологии эти фунгициды изучены недостаточно полно — не установлена степень их токсического воздействия на гидробионты, не исследованы механизмы влияния на водные биоценозы.

В этой связи задачей исследований стало изучение токсического воздействия карбоксамидов на жизнедеятельность ветвистоусых ракообразных, как наиболее чувствительных к действию пестицидов кормовых организмов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве материалов исследования были использованы карбоксамидные фунгициды, являющиеся техническими продуктами (действующие вещества) — Биксафен и Пенфлюфен.

Диапазон исследованных концентраций Биксафена составил 0,0001–0,1 мг/л; Пенфлюфена — 0,5–50,0 мг/л.

Объектами исследования стали ветвистоусые ракообразные *Daphnia magna* Straus. Культуру непрерывно поддерживали в 1,5 литровых аквариумах с дехлорированной водопроводной водой при температуре 22–25°C, содержание растворенного кислорода 7–8 мг O₂/л. Летальное действие карбоксамидов определяли в острых опытах при экспозиции 96 ч. Генетически однородных рачков рассаживали в стаканы объемом 500 мл по 10 шт. в каждый (три повторности для каждой концентрации токсиканта и контроля). Рачков ежедневно кормили хлореллой в концентрации 300–600 тыс. кл/мл, культура которой поддерживается в лаборатории.

На основании результатов по выживаемости организмов рассчитывали токсикометрические параметры методом пробит-анализа (Белан, 2003).

Полученные в экспериментах результаты подвергали статистической обработке, используя t-критерий Стьюдента. При всех видах статистической обработки результатов исследований использованы программы STATISTIKA и Microsoft Excel в среде Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Зоопланктонное сообщество один из важнейших компонентов водных экосистем и является индикатором их состояния, что определяется функцией зоопланктона — фильтрация взвеси и ее трансформация (Лисицын, 2004). Кроме того, ветвистоусые ракообразные преобладают по численности в пресноводных биоценозах, они активно участвуют в процессах естественного самоочищения водоемов и являются пищевыми объектами для многих рыб (Андроникова, 1966; Гиляров, 1987). Обзор литературы за последние 10 лет показал увеличение числа публикаций по экотоксикологии с использованием в качестве тест-объектов кладоцер, в том числе дафний (Sama, Nandini, 2006).

Высокая фильтрационная активность зоопланктонных организмов делает их наиболее уязвимой группой в составе водного сообщества при пестицидной интоксикации, что, подтверждает ряд публикаций. В опытах с определением токсичности диптерекса, малатиона и паратиона было показано, что изменение поведения и характера движения *Daphnia magna* при сублетальных концентрациях этих пестицидов может служить чувствительным показателем загрязнения ими водной среды (Ren Zongming et al., 2007). Установлена важная роль В-эстераз в детоксикации фосфоорганических и карбаматных пестицидов у дафний (Varata, et al., 2004). Показано, что гербицид раундап в сублетальных концентрациях оказывал угнетающее действие на репродукцию и ли-

нейные размеры дафний в четырех поколениях, при этом изменялась активность карбогидраз и протеиназ, что свидетельствует об отсутствии адаптации рачков к действию пестицида (Панченкова и др., 2009). При оценке токсичности гербицидов, фунгицидов и инсектицидов для гидробионтов выявлена корреляция их токсических эффектов для рыб и дафний, причем эта взаимосвязь была наиболее выражена для фунгицидов (Tremolada et. al., 2004). Разработаны математические модели прогнозирования острой токсичности современных пестицидов для дафний (Левина и др., 2009).

Все вышесказанное определило необходимость проведения исследований действия карбоксамидов на дафний.

На первом этапе эксперимента оценивали влияние действующих веществ на выживаемость гидробионтов в остром эксперименте с целью определения токсикометрических параметров, представленных в таблице 1. Рассчитанные среднелетальные концентрации позволили определить, что Пенфлюфен среднетоксичен ($5,0 < LK_{50} < 50,0$ мг/л) для дафний. Бискафен — особо токсичен ($LK_{50} < 0,5$ мг/л).

Для установления границ чувствительности дафний к новым фунгицидам оценивалось влияние Бискафена и Пенфлюфена на жизнедеятельность зоопланктонных организмов для 30 сут. по следующим показателям: выживаемость, скорость полового созревания, плодовитость, численность, биомасса и возрастной состав популяции. Фунгициды были исследованы в следующих диапазонах концентраций (мг/л):

Пенфлюфен — 0,05–50,0; Бискафен — 0,00005–0,1.

С увеличением концентраций фунгицидов снижалась выживаемость рачков, на основе которой определены токсикометрические параметры карбоксамидов, представленные в таблице 2.

Так же, как и острых, в хронических экспериментах для дафний Бискафен оказался токсичнее Пенфлюфена. Среднелетальная концентрация (LK_{50}) Бискафена, рассчитанная по результатам показателя выживаемости, составила 0,0007 мг/л, минимальная летальная (LK_{16}) — 0,0001 мг/л. Среднелетальная концентрация Пенфлюфена (LK_{50}) составила величину 0,63 мг/л. минимальная летальная (LK_{16}) — 0,17 мг/л. На уровне контроля выживаемость особей была лишь в растворах, содержащих 0,00005 мг/л Бискафена и 0,05 мг/л Пенфлюфена.

Дафнии — организмы с коротким биологическим циклом развития, что дает возможность проследить воздействие пестицидов на ряд поколений в течение 30 сут. и определить накопление их отрицательного влияния в трех генерациях рачков. Хроническая интоксикация может изменить рождаемость дафний либо путем снижения плодовитости или снижения выживаемости яиц и молоди, либо в связи с действием указанных факторов одновременно. Эти отрицательные влияния сказываются на биотическом потенциале и в худшем случае могут привести к полной бесплодности популяции, подвергшейся интоксикации (Иванова, 1979).

Анализ результатов экспериментов по экспонированию *D. magna* в растворе

Таблица 1. Основные токсикометрические параметры карбоксамидов для дафний в остром эксперименте (мг/л)

Экспозиция опыта, сутки	Пестицид	
	Пенфлюфен	Бискафен
4	$LK_0 = 0,59$ $LK_{16} = 1,63$ $LK_{50} = 5,72$	$LK_0 = 0,0002$ $LK_{16} = 0,0008$ $LK_{50} = 0,006$

Таблица 2. Выживаемость и токсикометрические параметры карбоксамидов для дафний в хроническом 30 суточном эксперименте *

Фунгицид	Концентрация, мг/л	Гибель рачков, %	Токсикометрические параметры, мг/л
Пенфлюфен	0,05	0	ЛК ₀ = 0,06
	0,1	17	ЛК ₁₆ = 0,17
	0,5	40	ЛК ₅₀ = 0,63
	1,0	67	ЛК ₈₄ = 2,34
	5,0	100	ЛК ₁₀₀ = 7,08
Бискафен	0,00005	0	ЛК ₀ = 0,00005
	0,0001	20	ЛК ₁₆ = 0,0001
	0,0005	43,3	ЛК ₅₀ = 0,0007
	0,002	73,3	ЛК ₈₄ = 0,0038
	0,005	100	ЛК ₁₀₀ = 0,0053

Примечание: «*» — выборка в каждом варианте опытов 30 экз.

препаратов показал, что с увеличением концентраций исследованных веществ усиливалось негативное воздействие на дафний, проявляющееся в снижении реальной плодовитости особей. Достоверные различия показателя относительно контроля происходили, начиная с концентрации Пенфлюфена 0,5 мг/л, Бискафена 0,0005 мг/л. Снижение плодовитости рачков происходило за счет увеличения времени созревания и уменьшения количества пометов.

На уровне контроля реальная плодовитость дафний, определяемая общим количеством народившейся жизнеспособной молодежи от одной самки, в исходном и последующих трех поколениях оставалась лишь в концентрациях 0,05–0,1 мг/л Пенфлюфена и 0,00005 мг/л Бискафена (рис. 1).

Изучение возрастного состава популяции зоопланктеров при действии неблагоприятных факторов среды необходимо для прогнозирования колебаний численности организмов: снижение численности молодежи является симптомом неблагополучия, т.к. для кладоцер характерны популяции с постоянным возрастным составом (Гиляров, 1987). Влияние карбоксамидов в течение 21 сут. на численность, биомассу и возраст-

ной состав популяции дафний отражено на рисунках 2 и 3.

Общая численность популяции достоверно начала снижаться в растворах Пенфлюфена с концентрацией 0,1 мг/л, изменения составили 27% по отношению к контролю и происходили за счет снижения численности молодежи (28%) и взрослых самок (25%). В концентрациях 0,5 мг/л и 1,0 мг/л расхождение с контролем по параметру общей численности составляло 34% и 54%, при этом количество молодежи снизилось на 34% и 47%, а половозрелых особей на 34% и 45%, соответственно.

В концентрации Бискафена 0,0001 мг/л прослеживалась тенденция снижения общей численности популяции за счет достоверного падения численности молодежи на 19%. В следующей концентрации фунгицида 0,0005 мг/л общая численность рачков достоверно снижалась по сравнению с контролем на 33%, при этом численность молодежи уменьшилась на 29%, а взрослых самок на 42%. В максимальной концентрации Бискафена 0,002 мг/л общая численность популяции еще более снижалась — на 42% за счет значительного уменьшения численности молодежи (40%) и взрослых самок (47%).

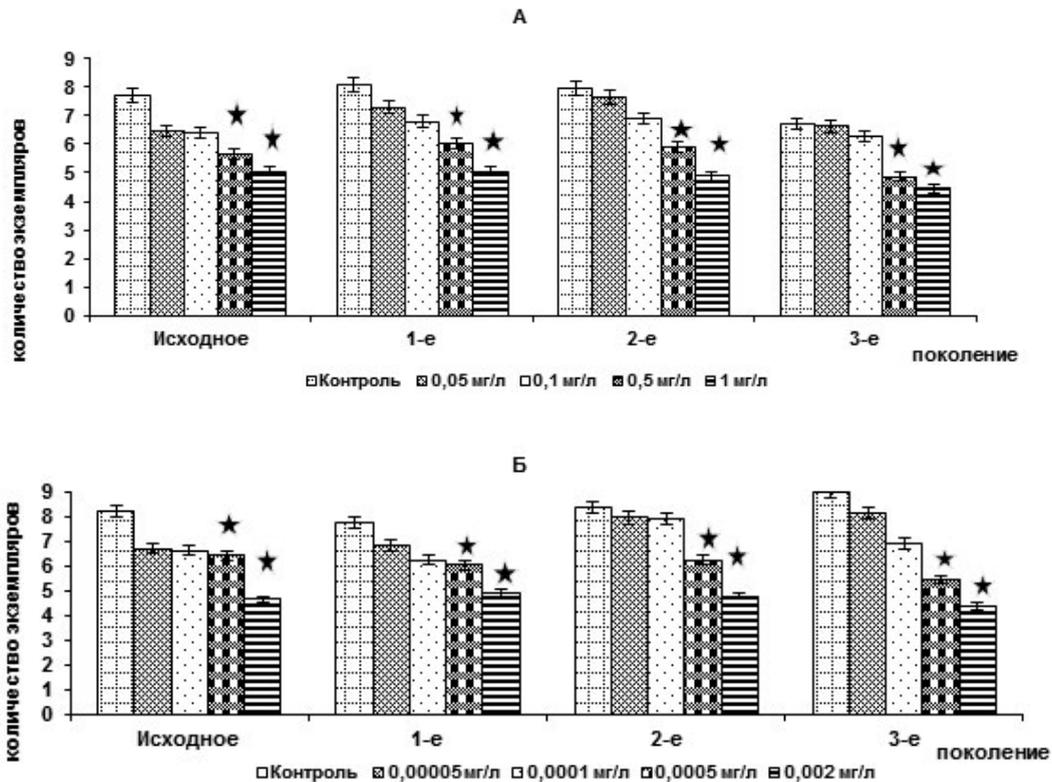


Рис. 1. Реальная плодовитость дафний трех генераций при действии карбоксамидов Пенфлюфена (А) и Биксафена (Б).

Примечание. ★ — достоверное ($p < 0,05$) изменение показателя по сравнению с контролем

Оба фунгицида не оказывали существенного влияния на соотношение возрастных групп в популяциях дафний во всех исследованных концентрациях. Численность молодых рачков была выше численности половозрелых дафний (рис. 2). В течение всего эксперимента не отмечалось появление самок с эфиппиумами и самцов.

Параллельно со снижением численности происходило уменьшение весового роста популяции дафний при действии карбоксамидов (рис. 3).

Биомасса популяции дафний, находившихся в растворах Пенфлюфена с концентрациями 0,1, 0,5 и 1,0 мг/л в течение 21 суток снижалась на 25, 39 и 45% соответственно. Биксафен оказывал отрицательное влияние на биомассу популяции дафний, начиная с концентрации 0,0001 мг/л, где она снизилась на 30%. В концентрациях 0,0005 и 0,002 мг/л снижение биомассы достигало 41 и 47% соответственно.

В концентрациях 0,05 мг/л Пенфлюфена и 0,00005 мг/л Биксафена негативного воздействия карбоксамидов на численность и биомассу популяций дафний не прослеживалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных экспериментов определены пороги чувствительности зоопланктонных организмов к действию действующих веществ класса карбоксамидов. Для *Пенфлюфена* порог чувствительности составил 0,1 мг/л, для *Биксафена* — 0,0001 мг/л. Начиная с этих концентраций фунгицидов снижалась выживаемость и плодовитость рачков в трех поколениях, численность и биомасса популяции. В хронических экспериментах *Биксафен* оказался в 1000 раз токсичнее *Пенфлюфена*.

Здесь надо отметить, что если Пенфлюфен входит в состав препаративных

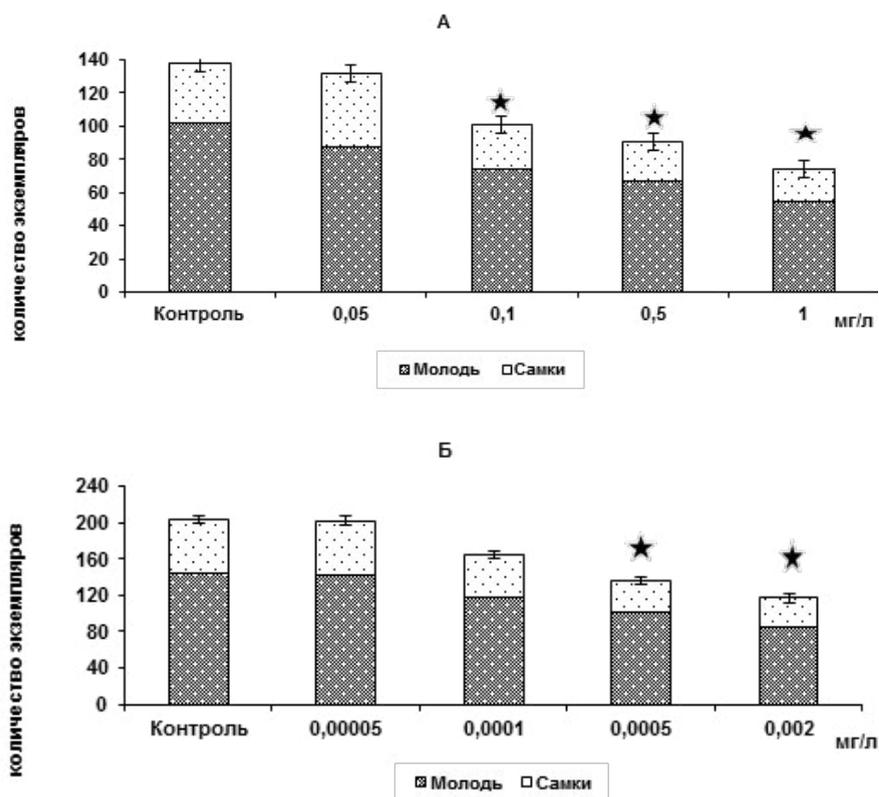


Рис. 2. Численность возрастных групп популяции дафний при действии карбоксамидов Пенфлюфена (А) и Биксафена (Б).

Примечание: ★ – достоверное ($p < 0,05$) изменение показателя по сравнению с контролем.

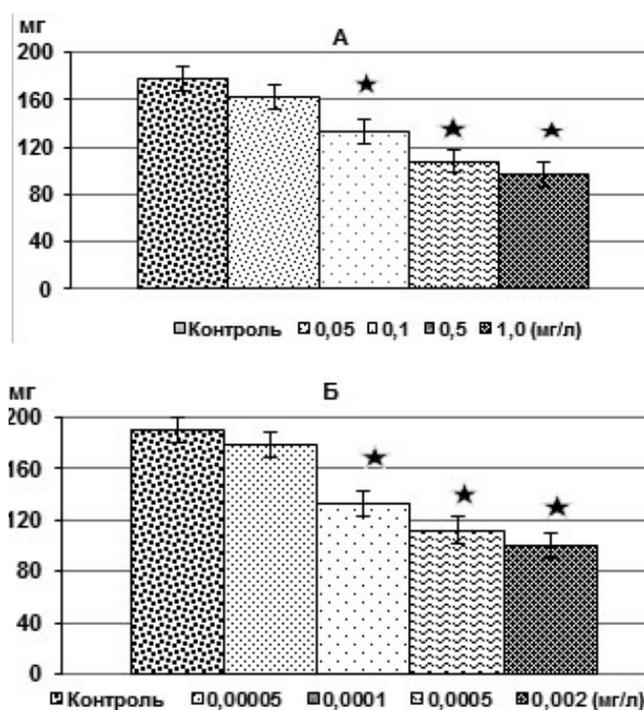


Рис. 3. Биомасса популяции дафний при действии карбоксамидов Пенфлюфена (А) и Биксафена (Б).

Примечание: ★ – достоверное ($p < 0,05$) изменение показателя по сравнению с контролем.

форм фунгицидов, используемых для протравливания семян картофеля, то препаративные формы фунгицидов на основе Биксафена применяются на зерновых культурах с помощью наземного опрыскивания. Следовательно, Биксафен попадает непосредственно в почву. Известно, что фунгицид Биксафен способен интенсивно адсорбироваться частицами почвы, с грунтовыми водами мигрировать в водную среду и переходить в донные отложения.

В таком случае, попадание в воду рыбохозяйственных водоемов Биксафена в концентрациях выше 0,00005 мг/л может сказаться на воспроизводстве потомства у представителей зоопланктона, являющихся пищевыми объектами для многих рыб, и, следовательно, нести потенциальную опасность для продуктивности рыбохозяйственных водоемов, в то время как Пенфлюфен менее опасен.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андроникова И. Н. Показатели участия зоопланктона в процессах естественного самоочищения // Структурно-функциональная организация зоопланктона озерных экосистем разных трофических типов. СПб.: Наука, 1966. С. 110–122.
- Белан С. Р. Новые достижения в химии фунгицидов // Агрохимия. 2003. № 11. С. 27–32.
- Гиляров А. М. Динамика численности пресноводных планктонных ракообразных. М.: Наука, 1987. 189 с.
- Грапов А. Ф., Козлов В. А. Современные подходы к созданию новых пестицидов // Агрохимия. 2003. № 11. С. 4–13.
- Захаренко В. А. Защита растений в третьем тысячелетии (Материалы XIV Международного конгресса по защите растений) // Агрохимия. 2000. № 4. С. 75–93.
- Захаренко В. А. Пестициды в аграрном секторе России конца XX – начала XXI века // Агрохимия. 2008. № 11. С. 86–96.
- Иванова М. Б. Продукция планктонных ракообразных // Общие основы изучения водных экосистем. Л.: Наука, 1979. С. 155–169.
- Ильницкая А. В., Липкина Л. В., Березняк И. В., Федорова С. Г. // Материалы IX Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей. М., 2001. Т. 2. С. 91–94.
- Левина И. Л., Щербакова Н. И., Жердев Н. А., Зинчук О. А. Модели прогнозирования токсичности современных пестицидов для зоопланктонных организмов // X Съезд Гидробиологического общества при РАН: тезисы докладов (г. Владивосток, 28 сентября–2 октября 2009 г.). Владивосток, 2009. С. 232.
- Лисицын А. П. Потоки осадочного вещества, природные фильтры и осадочные системы «живого океана» // Геология и геофизика. 2004. Т. 45. № 1. С. 15–48.
- Папченкова Г. А., Голованова И. Л., Ушакова Н. В. Репродуктивные показатели, размеры и активность гидролаз у *Daphnia magna* Straus в ряду поколений при действии гербицида «Раундап» // Биология внутренних вод. 2009. № 3. С. 105–110.
- Barata C., Solayan A., Porte C. Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna* // Aquat. Toxicol. 2004. Vol. 66, iss 2. P. 125–139.
- Ren Zongming, Zha Jinmiao, Ma Mei, Wang Zijian, Gerhardt Almut. The early warning of aquatic organophosphorus pesticide contamination by on-line monitoring behavioral changes of *Daphnia magna* // Environ. Monit. and Assess. 2007. Vol. 134, iss. 1–3. P. 373–383.
- Sama S. S., Nandini S. Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans // J. Environ. Sci. and Health. 2006. V. 41. Iss. 8. P. 1417–1430.
- Tremolada P., Finizio A., Villa S., Gaggi C., Vighi M. Quantitative inter-specific chemical activity relationships of pesticides in the aquatic environment // Aquat. Toxicol. 2004. V. 67. Iss. 1. P. 87–103.

**ASSESSMENT OF CARBOXAMIDE FUNGICIDES TOXICITY
ON THE FRESHWATER CRUSTACEAN *DAPHNIA MAGNA STRAUS***

© 2020 г. Е. А. Fedorova, О. А. Zinchuk

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, 107140
Azov-Black Sea branch of Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography
(AzNNIRKH), Rostov-on-Don, 344002

Materials are presented on the effect of two carboxamide fungicides, namely, bixafen and penflufen, on the zooplankton, in particular, *Daphnia magna* Straus. Penflufen is shown to be of middle toxicity while bixafen is highly toxic to the zooplankton. The action of carboxamides on biological parameters of cladocera was studied with the aim to quantify thresholds of sensitivity to fungicides. The survival rate, fecundity, abundance and biomass of daphnids are shown to decrease in the solutions with greater concentration of fungicides.

Bixafen entering a fishery waterbody in concentrations exceeding 0,00005 mg/l may be more dangerous to the zooplankton than penflufen.

Keywords: daphnia, *Daphnia magna* Straus, fungicides, toxicity, survival, fecundity, abundance, biomass, age composition.