

## ЭКОЛОГИЯ / ECOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.60797/BIO.2024.4.3>**ВЛИЯНИЕ НА РЕПРОДУКЦИЮ И ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ *DAPHNIA MAGNA STRAUS* ФУНГИЦИДА ПЕНКОНАЗОЛ**

Научная статья

**Папченкова Г.А.<sup>1,\*</sup>**<sup>1</sup> ORCID : 0000-0003-2022-3597;<sup>1</sup> Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, Ярославль, Российская Федерация

\* Корреспондирующий автор (gala\_al[at]mail.ru)

**Аннотация**

В настоящее время пестициды широко используются в мире. В то же время неизбирательное использование пестицидов стало серьезной экологической проблемой, представляя большой потенциальный риск для нецелевых организмов. Пестициды или продукты их распада обнаруживаются в пробах воды естественных водоемов, а также в очищенных сточных водах на участках постоянного эколого-токсикологического мониторинга. Целью данной работы является изучение влияния фунгицида пенконазол в заведомо установленных сублетальных концентрациях 0,003 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК), 0,03 мг/дм<sup>3</sup> и 0,3 мг/дм<sup>3</sup> на рост и плодовитость на *Daphnia magna* Straus. Биотестирование проводили на партеногенетически размножающейся лабораторной культуре. Эксперимент длился 21 день, в конце подсчитывали плодовитость особей, экспонированных в токсиканте, измеряли линейные размеры тела и сравнивали с аналогичными показателями в контроле. На 6-ой день эксперимента фотографировали яичники, чтобы сравнить их степень развития. Проведенное исследование демонстрирует явный отклик *Daphnia magna* на присутствие в воде даже незначительных количеств фунгицида пенконазол (на уровне ПДК в воде российских водоемов). Растворы пестицидов в больших концентрациях действующего вещества оказывают угнетающее или тормозящее действие на репродукцию и линейные размеры тела рачков.

**Ключевые слова:** *Daphnia magna*, экотоксикология, пестицид, пенконазол, репродукция.**INFLUENCE OF PENCONAZOLE FUNGICIDE ON REPRODUCTION AND VIABILITY OF *DAPHNIA MAGNA STRAUS***

Research article

**Papchenkova G.A.<sup>1,\*</sup>**<sup>1</sup> ORCID : 0000-0003-2022-3597;<sup>1</sup> I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences, Yaroslavl, Russian Federation

\* Corresponding author (gala\_al[at]mail.ru)

**Abstract**

Nowadays, pesticides are widely used in the world. At the same time, indiscriminate use of pesticides has become a serious environmental problem, posing a great potential risk to non-target organisms. Pesticides or their degradation products are detected in water samples of natural water bodies as well as in treated wastewater at sites of continuous ecological and toxicological monitoring. The aim of this work is to study the effect of fungicide penconazole at known sublethal concentrations of 0.003 mg/dm<sup>3</sup> (MAC), 0.03 mg/dm<sup>3</sup> and 0.3 mg/dm<sup>3</sup> on growth and fecundity on *Daphnia magna* Straus. Biotesting was carried out on parthenogenetically propagated laboratory culture. The experiment lasted 21 days, at the end the fecundity of individuals exposed to the toxicant was counted, linear body size was measured and compared with that of the control. On day 6 of the experiment, ovaries were photographed to compare their degree of development. This research demonstrates a clear response of *Daphnia magna* to the presence of even insignificant amounts of the fungicide penconazole in water (at the level of MPC in Russian water bodies). Pesticide solutions in high concentrations of the active substance have a suppressive or inhibitory effect on reproduction and linear body size of crustaceans.

**Keywords:** *Daphnia magna*, ecotoxicology, pesticide, penconazole, reproduction.**Введение**

Современное аграрное производство в большом объеме использует пестициды. С одной стороны, применение в сельском хозяйстве высокотехнологичных препаратов неизбежно, так как они способствуют повышению урожайности, снижению трудоемкости производства сельскохозяйственных культур. С другой – эти средства влияют не только на вредителей конкретной культуры, но и на всю окружающую экосистему, загрязняя водную среду. Во время обработки посадок пестицидом действие его на вредителей и сопутствующих представителей животного и растительного мира носит острый характер. В том случае, когда применённое вещество остаётся и накапливается в среде обитания, действие его принимает хронический характер. Неизбирательное использование пестицидов стало серьезной экологической проблемой. Пестициды или продукты их распада обнаруживаются в пробах воды естественных водоемов, а также в очищенных сточных водах на участках постоянного эколого-токсикологического мониторинга [1], [2]. В силу широкомасштабного применения пестицидов и возможности их попадания в водные экосистемы необходимо изучение их токсического действия на жизнедеятельность гидробионтов. Токсикологические исследования чрезвычайно важны, поскольку в водоемах разного типа обитает большое количество организмов. Использование живых организмов (биоиндикаторов), способных как-то указывать на наличие стрессов, вызванных

загрязнителями [3], [4] является одним из способов мониторинга негативных последствий в окружающей среде. Биомониторинг – экспериментальный метод, позволяющий оценить реакцию живых организмов на загрязнение, обладающий такими преимуществами, как: снижение затрат, эффективность мониторинга больших площадей и в течение длительных периодов времени, а также оценка химических элементов при низких концентрациях в окружающей среде.

В качестве тест-объектов используются многие виды рыб, ракообразных, моллюсков и пр., демонстрирующих токсичность различных химических веществ. Биотестирование в данном исследовании проводили на *Daphnia magna*. Ракообразные, особенно *Daphnia magna*, использовались много лет в стандартных испытаниях токсичности. Дафнии – важное звено в трофической сети водных экосистем. Кроме того, они обладают высокой чувствительностью к химическим веществам и большой скоростью воспроизводства. Используя лабораторные популяции при контролируемых условиях, можно измерить многие показатели, в т. ч. плодовитость, линейную скорость роста тела, удельную скорость роста популяции, а также влияние на неё различных факторов [5], в природных популяциях измерить эти показатели трудно или невозможно.

Цель работы – изучение влияния фунгицида пенконазол в заведомо установленных сублетальных концентрациях на рост и плодовитость на *Daphnia magna* Straus.

### Методы и принципы исследования

В исследовании использовался фунгицид Топаз – действующее вещество пенконазол. Пенконазол – системный высокоэффективный пестицид из класса триазолов. Применяется в сельском хозяйстве, активен против патогенов, вызывающих болезни овощей, виноградной лозы, ягодных, плодовых и декоративных культур. Согласно перечню «Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов в объектах окружающей среды», утвержденного Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации от 10 мая 2018 года N 33 ПДК для действующего вещества Топаза пенконазола 0,003 мг/дм<sup>3</sup> (№ 341) [6]. Готовили растворы токсиканта в концентрации 0,003 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК), 0,03 мг/дм<sup>3</sup> и 0,3 мг/дм<sup>3</sup>. Биотестирование проводили на партеногенетически размножающейся лабораторной культуре *D. magna* в соответствии с инструкцией по тестированию [7]. Генетически однородных рачков, возраст которых был менее 24 часов, рассаживали в стаканы объемом 250 мл с 125 мл среды по 1 штуке в каждый, в 30 повторностях для каждой концентрации токсиканта и контроля непосредственно для тестирования и дополнительно в 10 повторностях для фотографирования развития яичников после 6 дней экспозиции. В контроле использовали отстоянную водопроводную воду, насыщенную кислородом, на этой же воде готовили растворы токсикантов. Один раз в сутки в одно и то же время контролировали наличие помета, пересчитывали народившуюся молодежь. На 21-й день измеряли длину взрослых самок. Измерения проводили под бинокулярным микроскопом при увеличении  $\times 8$ . Длина тела измерялась от вершины головы до основания хвостовой иглы. После завершения эксперимента подсчитывали суммарную плодовитость на 1 самку за 21 сутки эксперимента, число пометов на 1 самку, день первой репродукции. Среда обновлялась через каждые 3 дня. Рачков ежедневно кормили суспензией клеток водоросли *Chlorella vulgaris* Beyer., культура которой культивируется в лаборатории. Поддерживали оптимальные условия среды: температуру 23°C и световой режим день-ночь (16+8 ч). Фотографии сделаны на цифровом микроскопе марки Olympus CX31 с видеокамерой JVC TK\_C1481BEG при увеличении 40 раз.

### Основные результаты

Результаты эксперимента представлены в таблице 1. Анализ результатов по экспонированию *D. magna* в растворах пестицида пенконазол концентрацией равной 0,003 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК), 0,03 мг/дм<sup>3</sup> и 0,3 мг/дм<sup>3</sup> показал, что хотя выживаемость в растворе 0,003 мг/дм<sup>3</sup>, как и в контроле, была 100% и гибели животных не наблюдалось, но общая плодовитость была достоверно ниже в токсиканте. В концентрациях токсиканта 0,03 мг/дм<sup>3</sup> и 0,3 мг/дм<sup>3</sup> гибель рачков за 21 день была существенной.

Таблица 1 - Плодовитость и размеры рачков *Daphnia magna* при экспозиции в растворах пенконазола

DOI: <https://doi.org/10.60797/BIO.2024.4.3.1>

Показатели выживаемости, плодовитости и размер тела	Концентрация токсиканта, мг/дм <sup>3</sup>			
	Контроль -вода	0,003	0,03	0,3
Выживаемость (на 21-й день), %	100	100	67	0
Суммарное количество новорожденных на 1 самку за 21 сутки	51,3 ± 4,1	38,0 ± 3,2*	31,0 ± 2,8*	0
Количество пометов за 21 сутки	4,1 ± 0,2	3,2 ± 0,2*	3,3 ± 0,2*	0
День появления 1-го выводка	8,0 ± 0,3	10,8 ± 0,4*	12,2 ± 0,4*	0

Показатели	Концентрация токсиканта, мг/дм <sup>3</sup>			
	0,003	0,006	0,012	0,024
Выживаемость, %	100	100	100	100
Размер тела особей на 21 день, мм	3,7 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,3 ± 0,1	0

Примечание: \*отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контрольных значений (оценка по критерию Стьюдента,  $p \leq 0,05$ )

Другой показатель репродукции – количество пометов за 21 сутки для всех концентраций токсиканта достоверно ниже контрольного. Линейный размер особей из всех растворов пестицида только на уровне тенденции ниже особей из контроля. В нашем эксперименте даже раствор пестицида в концентрации равной ПДК (0,003 мг/дм<sup>3</sup>) оказывают негативное воздействие на плодовитость, то есть причиняют ущерб, хотя считается, что ПДК – это величина, характеризующая максимальное количество вещества, которое может находиться в определенном объеме измерений и не причинять ущерба живым организмам.

Наши предыдущие эксперименты по выявлению воздействия разных пестицидов на *Daphnia magna*, как например, гербицида раундап [8], инсектицида – танрек (имidakлоприд) [9] всегда демонстрировали снижение плодовитости. Влияние пестицидов на несколько поколений рачков, то есть хронического воздействия подтверждает ухудшение плодовитости, размеров особей, активность гидролаз и даже влияние на морфологические параметры [8], [10].

### Обсуждение

Поступающие в водоемы токсиканты различной химической природы могут влиять по-разному на репродуктивную функцию беспозвоночных. Так, в хроническом 10-сут эксперименте показано негативное действие незначительных количеств Си на репродуктивную функцию ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg за счет уменьшения индивидуальной плодовитости, при этом выявлена зависимость эффекта от степени минерализации воды [11]. Сырая нефть уменьшала плодовитость дафний *Daphnia pulex*, начиная с концентрации 1 мкл/л [8]. Но не всегда присутствие токсиканта вызывает торможение развития, известны работы, где было показано повышение устойчивости ракообразных к сточным водам [12], повышенному содержанию ионов калия [13].

Как видно из таблицы, особенно пагубное влияние все пестицид оказывает на начало репродукции. Первый вымет у особей, экспонируемых в растворах пестицида, происходит позднее, чем в контроле. Можно определить эффект воздействия токсического вещества, используя показатели плодовитости (табл. 1), но причина этого не ясна. Это становится понятным только из сравнения состояния яичников особей (рис. 1а, 1б, 1в, 1г). На фотографиях видно, что после 6 суток экспозиции степень развития яичников из растворов пестицидов (рис. 1б, 1в, 1г) отстает от развития яичников из контроля (рис. 1а). Следовательно, влияние инсектицида на репродуктивную функцию рачков отмечается уже на стадии оогенеза. Такой эффект торможения развития или даже блокировки роста ооцитов, а также повреждения тканей под влиянием токсиканта наблюдался нами во всех предыдущих экспериментах с пестицидами [8], [9], [10] и др.

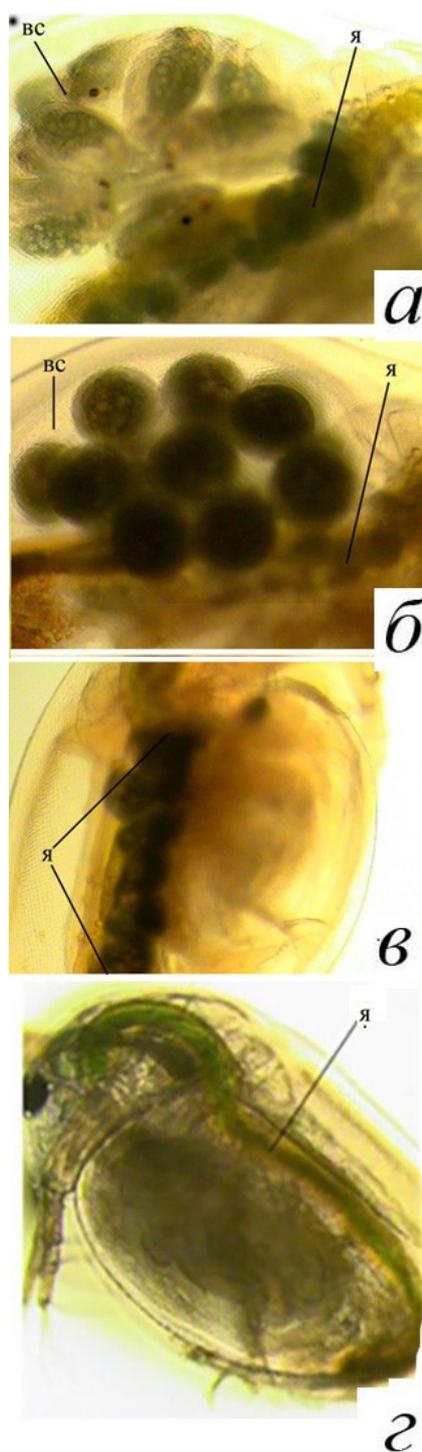


Рисунок 1 - Состояние яичников на 6 сут экспозиции в растворах фунгицида пенконазол:  
 а – концентрация пестицида – контроль; б – 0,003 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК); в – 0,03 мг/дм<sup>3</sup>; г – 0,3 мг/дм<sup>3</sup>; я – яичник; вс –  
 выводковая сумка

DOI: <https://doi.org/10.60797/BIO.2024.4.3.2>

Степень развития яичников наглядно демонстрирует действие токсиканта на дафний (рис. 1). Большая часть рачков в контроле имела в выводковой камере хорошо развитые подвижные эмбрионы первого вымета, готовые покинуть выводковую камеру, а также хорошо видимые яйцеклетки следующей генерации в яичниках (рис. 1а). У большинства дафний, экспонируемых в растворе пенконазола концентрацией 0,003 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК) яйца перешли из яичников в выводковую сумку, а следующая порция яйцеклеток в яичниках начинала накапливать желток (рис. 1б). В растворе 0,03 мг/дм<sup>3</sup> в яичниках дафний наблюдались яйцеклетки на стадии накопления желтка (рис. 1в). В растворах 0,3 мг/дм<sup>3</sup> яйцеклетки находились в зачаточном состоянии.

#### Заключение

Проведенное исследование демонстрирует, явный отклик *Daphnia magna* на присутствие в воде даже незначительных количеств фунгицида пенконазол (на уровне ПДК в воде российских водоемов). Растворы пестицидов

в больших концентрациях действующего вещества оказывают угнетающее или тормозящее действие на репродукцию и линейные размеры тела рачков. Даже при незначительной концентрации у экспонированных в пестицидах рачков снижается плодовитость в результате торможения развития яичников по сравнению с особями в контроле.

### Конфликт интересов

Не указан.

### Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

### Conflict of Interest

None declared.

### Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

### Список литературы / References

1. CCME Water Valuation Guidance Document (2010). The Canadian Council of Ministers of the Environment. — URL: [https://ccme.ca/en/res/water\\_valuation\\_en\\_1.0.pdf](https://ccme.ca/en/res/water_valuation_en_1.0.pdf) (accessed: 24.09.2024)
2. Sadaria A.M. Mass Balance Assessment for Six Neonicotinoid Insecticides During Conventional Wastewater and Wetland Treatment: Nationwide Reconnaissance in United States Wastewater / A.M. Sadaria, S.D. Supowit, R.U. Halden // Environ. Sci. Technol. — 2016. — № 50. — P. 6199–6206. DOI: 10.1021/acs.est.6b01032.
3. Carneiro R.M.A. Estudos sobre bioindicadores vegetais e poluicao atmosferica por meio de revisao sistematica da literatura / R.M.A. Carneiro, A.M.M. Takayanagui // Revista Brasileira de Ciencias Ambientais. — 2009. — Vol. 13. — P. 26–44. DOI: 10.11606/D.22.2004.tde-19102004-170613.
4. Hosnia S.A.M. Accumulation of Some Heavy Metals in *Oreochromis niloticus* from the Nile in Egypt: Potential Hazards to Fish and Consumers / S.A.M. Hosnia, A.M.M. Manal // Journal of Environmental Protection. — 2015. — Vol. 6. — P. 1003–1013. DOI: 10.4236/jep.2015.69089.
5. Одум Ю. Экология / Ю. Одум. — М. : Мир, 1986. — Т. 2. — 376 с.
6. ГН 1.2.3539—18 Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов в объектах окружающей среды. — URL: <https://docs.cntd.ru/document/557532326?marker=6540IN> (дата обращения: 20.09.2024).
7. OECD Guidelines for testing of chemicals // *Daphnia magna* Reproduction Test. — Paris: OECD, 1998. — URL: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948277.pdf> (accessed: 12.09.2024).
8. Papchenkova G.A. The Parameters of reproduction, sizes, and activities of hydrolases in *Daphnia magna* Straus of successive generations affected by roundup herbicide / G.A. Papchenkova, I.L. Golovanova, N.V. Ushakova // Inland Water Biol. — 2009. — № 2(3). — P. 286–291. DOI: 10.1134/S1995082909030158 5.
9. Papchenkova G.A. Effect of the insecticide Tanrec® on reproduction and vital activity of *Daphnia magna* Straus in a 15-day / G.A. Papchenkova, A.V. Makrushin // Test. Inland Water Biol. — 2013 — № 4 — P. 74–81. DOI: 10.7868/S0320965213040128.
10. Папченкова Г.А. Влияние сублетальных концентраций гербицида Раундап на размеры, плодовитость и морфологические параметры *Daphnia magna* STRAUS (Cladocera) / Г.А. Папченкова, Л.П. Гребенюк // Токсикологический вестник. — 2008 — № 4 — С. 27–30.
11. Хлебович В.В. Некоторые аспекты фенотипической адаптации / В.В. Хлебович, В.Я. Бергер // Журнал общей биологии. — 1975. — Т. XXXVI. — С. 11–25.
12. Флеров Б.А. Плодовитость и размеры *Ceriodaphnia affinis* Lill. в ряду поколений при действии бытовых сточных вод / Б.А. Флеров, В.А. Гремячих, Ю.Г. Изюмов // Известия АН. Серия биологическая. — 2003. — № 3 — С. 375–377.
13. Калинкина Н.М. Увеличение резистентности *Simoccephalus serrulatus* Koch при акклимации к повышенным концентрациям ионов калия / Н.М. Калинкина, И.В. Пименова И.В. // Биология внутр. вод. — 2002. — № 3 — С. 93–96.

### Список литературы на английском языке / References in English

1. CCME Water Valuation Guidance Document (2010). The Canadian Council of Ministers of the Environment. — URL: [https://ccme.ca/en/res/water\\_valuation\\_en\\_1.0.pdf](https://ccme.ca/en/res/water_valuation_en_1.0.pdf) (accessed: 24.09.2024)
2. Sadaria A.M. Mass Balance Assessment for Six Neonicotinoid Insecticides During Conventional Wastewater and Wetland Treatment: Nationwide Reconnaissance in United States Wastewater / A.M. Sadaria, S.D. Supowit, R.U. Halden // Environ. Sci. Technol. — 2016. — № 50. — P. 6199–6206. DOI: 10.1021/acs.est.6b01032.
3. Carneiro R.M.A. Estudos sobre bioindicadores vegetais e poluicao atmosferica por meio de revisao sistematica da literatura [Studies on plant bioindicators and atmospheric pollution through a systematic literature review] / R.M.A. Carneiro, A.M.M. Takayanagui // Revista Brasileira de Ciencias Ambientais [Brazilian Journal of Environmental Sciences]. — 2009. — Vol. 13. — P. 26–44. DOI: 10.11606/D.22.2004.tde-19102004-170613. [in Portuguese]
4. Hosnia S.A.M. Accumulation of Some Heavy Metals in *Oreochromis niloticus* from the Nile in Egypt: Potential Hazards to Fish and Consumers / S.A.M. Hosnia, A.M.M. Manal // Journal of Environmental Protection. — 2015. — Vol. 6. — P. 1003–1013. DOI: 10.4236/jep.2015.69089.
5. Odum Ju. Jekologija [Ecology] / Ju. Odum. — М. : Mir, 1986. — Vol. 2. — 376 p. [in Russian]

6. GN 1.2.3539—18 Gigienicheskie normativy sodержaniya dejstvujushhijh veshhestv pesticidov v ob'ektah okruzhajushhej sredy [GN 1.2.3539-18 Hygienic standards for the content of active substances of pesticides in environmental objects]. — URL: <https://docs.cntd.ru/document/557532326?marker=6540IN> (accessed: 20.09.2024). [in Russian]
7. OECD Guidelines for testing of chemicals // *Daphnia magna* Reproduction Test. — Paris: OECD, 1998. — URL: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948277.pdf> (accessed: 12.09.2024).
8. Papchenkova G.A. The Parameters of reproduction, sizes, and activities of hydrolases in *Daphnia magna* Straus of successive generations affected by roundup herbicide / G.A. Papchenkova, I.L. Golovanova, N.V. Ushakova // *Inland Water Biol.* — 2009. — № 2(3). — P. 286–291. DOI: 10.1134/S1995082909030158 5.
9. Papchenkova G.A. Effect of the insecticide Tanrec® on reproduction and vital activity of *Daphnia magna* Straus in a 15-day / G.A. Papchenkova, A.V. Makrushin // *Test. Inland Water Biol.* — 2013 — № 4 — P. 74–81. DOI: 10.7868/S0320965213040128.
10. Papchenkova G.A. Vlijanie subletal'nyh koncentracij gerbicida Raundap na razmery, plodovitost' i morfologicheskie parametry *Daphnia magna* STRAUS (Cladocepa) [Effect of sublethal concentrations of the herbicide Roundup on the size, fecundity and morphological parameters of *Daphnia magna* STRAUS (Cladocepa)] / G.A. Papchenkova, L.P. Grebenjuk // *Toksikologicheskij vestnik* [Toxicological Bulletin]. — 2008 — № 4 — P. 27–30. [in Russian]
11. Hlebovich V.V. Nekotorye aspekty fenotipicheskoy adaptacii [Some aspects of phenotypic adaptation] / V.V. Hlebovich, V.Ja. Berger // *Zhurnal obshhej biologii* [Journal of General Biology]. — 1975. — Vol. XXXVI. — P. 11–25. [in Russian]
12. Flerov B.A. Plodovitost' i razmery *Ceriodaphnia affinis* Lill.v rjadu pokolenij pri dejstvii bytovyh stochnyh vod [Fecundity and size of *Ceriodaphnia affinis* Lill.in a series of generations under the action of domestic sewage] / B.A. Flerov, V.A. Gremjachih, Ju.G. Izjumov // *Izvestija AN. Serija biologicheskaja* [Proceedings of the Academy of Sciences. Biological Series]. — 2003. — № 3 — P. 375–377. [in Russian]
13. Kalinkina N.M. Uvelichenie rezistentnosti *Simocephalus serrulatus* Koch pri akklimacii k povyshennym koncentracijam ionov kalija [Increase in resistance of *Simocephalus serrulatus* Koch during acclimation to increased concentrations of potassium ions] / N.M. Kalinkina, I.V. Pimenova I.V. // *Biologija vnutr. vod* [Biology of Inland Waters]. — 2002. — № 3 — P. 93–96. [in Russian]