
POLLUTION

DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2021.4.20.5>

Papchenkova G.A. *

Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Borok, Russia

* Corresponding author (gala_al[at]mail.ru)

Received: 15.11.2021; Accepted: 7.12.2021; Published: 15.12.2021

TOXIC EFFECT OF IMIDACLOPRID ON THE DEVELOPMENT OF *DAPHNIA MAGNA* LINEAGE

Research article

Abstract

Neonicotinoids (which include imidacloprid) are the world's most widely used insecticides, with global production valued at US\$ 2.5 billion and registrations in more than 120 countries. Imidacloprid insecticide was detected in the water samples at the sites of constant ecological and toxicological monitoring. The toxic effect of imidacloprid concentrations of $3,0 \times 10^{-7}$ and $3,0 \times 10^{-2}$ mg/l on successive generations of *Daphnia magna* was studied. The effects on fertility indicators, linear sizes of daphnia were determined. The influence of toxicant both on parents and the succeeding generations were observed. The adaptation of *Daphnia magna* to imidacloprid could not be found in four successive generations.

Keywords: *Daphnia magna*, ecotoxicology, insecticide, imidacloprid, reproduction.

Папченкова Г.А. *

Институт биологии внутренних вод Российской академии наук, Борок, Россия

* Корреспондирующий автора (gala_al[at]mail.ru)

Получена: 15.11.2021; Доработана: 7.12.2021; Опубликовано: 15.12.2021

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНСЕКТИЦИДА ИМИДАКЛОПРИД НА РАЗВИТИЕ *DAPHNIA MAGNA* В ПОКОЛЕНИЯХ

Научная статья

Аннотация

Неоникотиноиды (включая имидаклоприд) являются наиболее широко используемыми инсектицидами в мире, их производство оценивается в 2,5 миллиарда долларов США и зарегистрированы более чем в 120 странах. Имидаклоприд обнаружен в пробах воды на участках постоянного эколого-токсикологического мониторинга. Исследовано влияние сублетальных концентраций $3,0 \times 10^{-7}$ и $3,0 \times 10^{-2}$ мг/л инсектицида на основе действующего вещества имидаклоприд в ряду поколений *Daphnia magna*, как на родительские особи, так и на особи последующих поколений. Определены эффекты по показателям плодовитости, линейным размерам дафний. В ряду 4-х поколений не удалось выявить адаптацию *Daphnia magna* к имидаклоприду.

Ключевые слова: *Daphnia magna*, экотоксикология, инсектицид, имидаклоприд, репродукция.

1. Введение

Неоникотиноиды являются наиболее широко используемыми инсектицидами в мире, их мировое производство оценивается в 2,5 миллиарда долларов США и зарегистрировано в 120 странах для коммерческого использования более чем 140 сельскохозяйственных культур [1]. Инсектицид на основе действующего вещества имидаклоприд уже много лет является самым продаваемым инсектицидом в мире [2]. Имидаклоприд обнаружен в пробах воды на участках постоянного эколого-токсикологического мониторинга. В Европе и Северной Америке имидаклоприд и продукты его разложения обнаруживаются в естественных водоемах в концентрациях от следовых количеств до 11,9 мкг / л. Инсектицид довольно стабилен, и, согласно отчетам различных исследователей, период полураспада в водной среде колеблется от 36 дней до еще более длительных периодов; значительно выше в почве [3]. В свете этих фактов вполне возможно хроническое воздействие имидаклоприда на составляющие экосистемы.

Недавние исследования показывают, что широкое использование имидаклоприда и других пестицидов в сельском хозяйстве может способствовать разрушению колоний медоносных пчел (CCD) и сокращению численности семей медоносных пчел в Европе и Северной Америке, которое наблюдается с 2006 года [4]. В результате несколько стран ограничили использование имидаклоприда и других неоникотиноидов. В декабре 2013 года Европейская комиссия

(ЕК) ввела двухлетний мораторий на имидаклоприд, клотианидин и тиаметоксам после отчетов Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (EFSA) об этих веществах, представляющих «острый риск» для медоносных пчел, которые необходимы для естественной экосистемы [5]. Неизбирательное использование пестицидов стало серьезной экологической проблемой, представляя большой потенциальный риск для нецелевых организмов.

Несколько лет назад в США было проведено замечательное, но громоздкое и дорогостоящее исследование, которое дало ценные результаты [6]. Возникновение и удаление шести высокопроизводительных неоникотиноидов в больших количествах были исследованы на 13 традиционных очистных сооружениях и одном искусственно созданном водно-болотном угодье. Экстраполяция данных 13 очистных сооружений по стране в целом предполагает ежегодные сбросы имидаклоприда порядка 1000-3400 кг / год, содержащихся в очищенных сточных водах, сбрасываемых в поверхностные воды по всей стране. Этот первый массовый баланс и первая общенациональная разведка сточных вод в Соединенных Штатах определили, что имидаклоприд, ацетамиприд и клотианидин являются стойкими компонентами сточных вод, которые сохраняются при очистке сточных вод, затем попадают в водоемы при значительной нагрузке и потенциально опасны для чувствительных водных организмов.

Цель работы – изучение влияния имидаклоприда в заведомо установленных сублетальных концентрациях $3,0 \times 10^{-7}$ и $3,0 \times 10^{-2}$ мг/л на рост и плодовитость в четырех поколениях *Daphnia magna* Straus. Выбор *D. magna* в качестве тест-объекта обусловлен тем, что ракообразные являются важным трофическим звеном водных экосистем, их высокой чувствительностью к токсикантам, легкостью культивирования и высокой скоростью воспроизводства.

2. Методы

В исследовании использовался водорастворимый концентрат инсектицида имидаклоприд в концентрации 200 г/л в ампулах. Химическое вещество зарегистрировано в РФ и производится компанией "Август. Этот инсектицид предназначен для борьбы с колорадским жуком и другими насекомыми. Имидаклоприд относится к классу неоникотиноидов с системным действием. Неоникотиноиды оказывают непосредственное влияние на нервную систему насекомых. Они нарушают передачу нервных сигналов, что приводит к чрезмерному нервному возбуждению и необратимому параличу всех жизненно важных центров. Выбор концентраций в этом исследовании был продиктован тем фактом, что $3,0 \pm 10^{-2}$ мг/л является предельно допустимой концентрацией (ПДК) имидаклоприда в водной системе России [7]. Концентрация $3,0 \times 10^{-7}$ мг/л соизмерима с концентрациями инсектицида, обнаруженного при мониторинге водоемов [3].

Биотестирование проводили на партеногенетически размножающейся лабораторной культуре *D. Magna*. 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 10 повторностях для каждой концентрации токсиканта и контроля. В контроле использовали отстоянную водопроводную воду, насыщенную кислородом. На 21-й день из каждого варианта эксперимента отбирали 10 особей возрастом менее 24 часов для продолжения эксперимента, измеряли длину взрослых самок. Измерения проводили под бинокулярным микроскопом при увеличении $\times 8$. Длина тела измерялась от вершины головы до основания хвостовой иглы. Всего проанализировано 4 поколения, в том числе родительское (I), отличающееся от последующих поколений тем, что особи его не подвергались действию токсиканта на стадиях оогенеза и эмбриогенеза. Один раз в сутки в одно и тоже время контролировали наличие помета, пересчитывали народившуюся молодежь. После завершения эксперимента подсчитывали в каждом поколении суммарную плодовитость на 1 самку за 21 суток эксперимента, число пометов на 1 самку и количество новорожденных в одном вымете.

Среда обновлялась через каждые 3 дня. Рачков ежедневно кормили суспензией клеток водоросли *Chlorella vulgaris* Weueg., культура которой поддерживается 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.

3. Результаты и обсуждения

Анализ результатов эксперимента по экспонированию *D magna* в растворе имидаклоприда показал, что токсикант в концентрации $3,0 \pm 10^{-2}$ и $3,0 \pm 10^{-7}$ мг/л угнетающе действовал на рачков уже первого поколения, полученных от неэкспонированных в токсиканте на стадиях оогенеза и эмбриогенеза материнских организмов (табл. 1). Плодовитость особей материнского поколения (I), экспонируемых в токсиканте $3,0 \pm 10^{-2}$, достоверно ниже плодовитости контрольных. Экспонируемые в инсектициде особи следующих поколений (II-IV), полученные от уже экспонируемых в токсиканте материнских особей, давали ту же картину – плодовитость их достоверно ниже плодовитости контрольных. Подобное происходит и с другим показателем репродукции – средним числом новорожденных в одном выводке. Оно также достоверно ниже во всех поколениях, содержащихся в токсиканте рачков по сравнению с контрольными и варьирует от 8 до 15 особей. Количество пометов, полученное за 21 день эксперимента, также сохраняло подобную закономерность. В каждом поколении за время 21-суточного теста было получено 2–5 выводка новорожденных. Первый вымет особей, экспонируемых в инсектициде, происходит позднее, чем в контроле. Выявлена положительная корреляция начала репродукции от концентрации токсиканта. Аналогично длина тела половозрелых рачков из токсиканта достоверно меньше длины контрольных особей во всех поколениях.

Таблица 1 – Плодовитость рачков *Daphnia magna* в ряду поколений при экспозиции в растворе инсектицида на основе действующего вещества имидаклоприд

Концентрация имидаклоприда, мг/л	Поколения			
	I	II	III	IV
Суммарное количество новорожденных на 1 самку за 21 сутки				
0 (контроль)	52,2 ± 4,4	55,0 ± 5,5	62,1 ± 6,5	57,1 ± 5,9
3,0 x10 ⁻⁷	47,4 ± 1,6	38,9 ± 2,0	32,9 ± 2,1*	23,7 ± 1,9*
3,0 x10 ⁻²	20,7 ± 2,8*	26,1 ± 3,2*	20,3 ± 2,0*	19,4 ± 2,2*
Количество пометов за 21 сутки				
0 (Контроль)	4,2 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,6 ± 0,4	4,7 ± 0,4
3,0 x10 ⁻⁷	3,3 ± 0,2*	3,1 ± 0,2*	3,6 ± 0,3*	3,0 ± 0,4*
3,0 x10 ⁻²	2,4 ± 0,3*	3,0 ± 0,2*	2,4 ± 0,3*	1,9 ± 0,3*
Количество новорожденных в одном помете				
0 (контроль)	12,7 ± 1,2	12,2 ± 1,1	13,7 ± 1,6	12,6 ± 1,3
3,0 x10 ⁻⁷	15,0 ± 1,3	13,3 ± 1,5	9,6 ± 1,4*	8,0 ± 1,5*
3,0 x10 ⁻²	8,7 ± 2,5*	8,6 ± 0,8*	8,7 ± 2,0*	9,7 ± 1,7*
День появления 1-ого выводка				
0 (контроль)	7,2 ± 0,2	7,9 ± 0,3	7,7 ± 0,3	7,4 ± 0,2
3,0 x10 ⁻⁷	13,2 ± 0,4*	9,7 ± 0,4*	12,8 ± 0,4*	12,5 ± 0,4*
3,0 x10 ⁻²	14,2 ± 0,8*	10,6 ± 0,3*	13,2 ± 0,6*	14,1 ± 0,7*
Линейные размеры особей на 21 день				
0 (контроль)	3,4 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,4 ± 0,1
3,0 x10 ⁻⁷	3,1 ± 0,1*	3,0 ± 0,1*	3,1 ± 0,1*	3,0 ± 0,1*
3,0 x10 ⁻²	2,8 ± 0,1*	2,9 ± 0,1*	3,0 ± 0,1*	2,9 ± 0,1*

Примечание: *отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контрольных значений (оценка по критерию Стьюдента, $p \leq 0.05$)

Поступающие в водоемы токсиканты различной химической природы могут влиять на репродуктивную функцию беспозвоночных. Так, в хроническом 10-сут эксперименте показано негативное действие Cu на репродуктивную функцию ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg за счет уменьшения индивидуальной плодовитости, при этом выявлена зависимость эффекта от степени минерализации воды [8]. Сырая нефть уменьшала плодовитость дафний *Daphnia pulex*, начиная с концентрации 1 мкл/л [9]. В работе [10] в 15-суточных тестах установлено, что растворы раундапа в сублетальных концентрациях 25 и 50 мг/л угнетающе действовали на репродукцию и линейные размеры тела *D. magna* уже в первом поколении. В ряду 3-х последующих поколений у экспонированных в гербициде рачков снижалось число выметов, срок первого вымета и количество особей в помете, а также длина тела.

Ранее при исследовании водных беспозвоночных, в том числе и ракообразных, было показано повышение их устойчивости к солености [11], сточным водам [12], повышенному содержанию ионов калия [13]. Поскольку за 4 поколения в экспериментальных рядах не произошло восстановления плодовитости и размеров рачков говорить об адаптации *D. magna* по отношению к инсектициду на основе действующего вещества имидаклоприд в проведенном эксперименте не представляется возможным, а наоборот, позволяет предположить наличие аккумуляции токсического эффекта в ряду поколений дафний.

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 всех вариантов исследования (рис. 1).

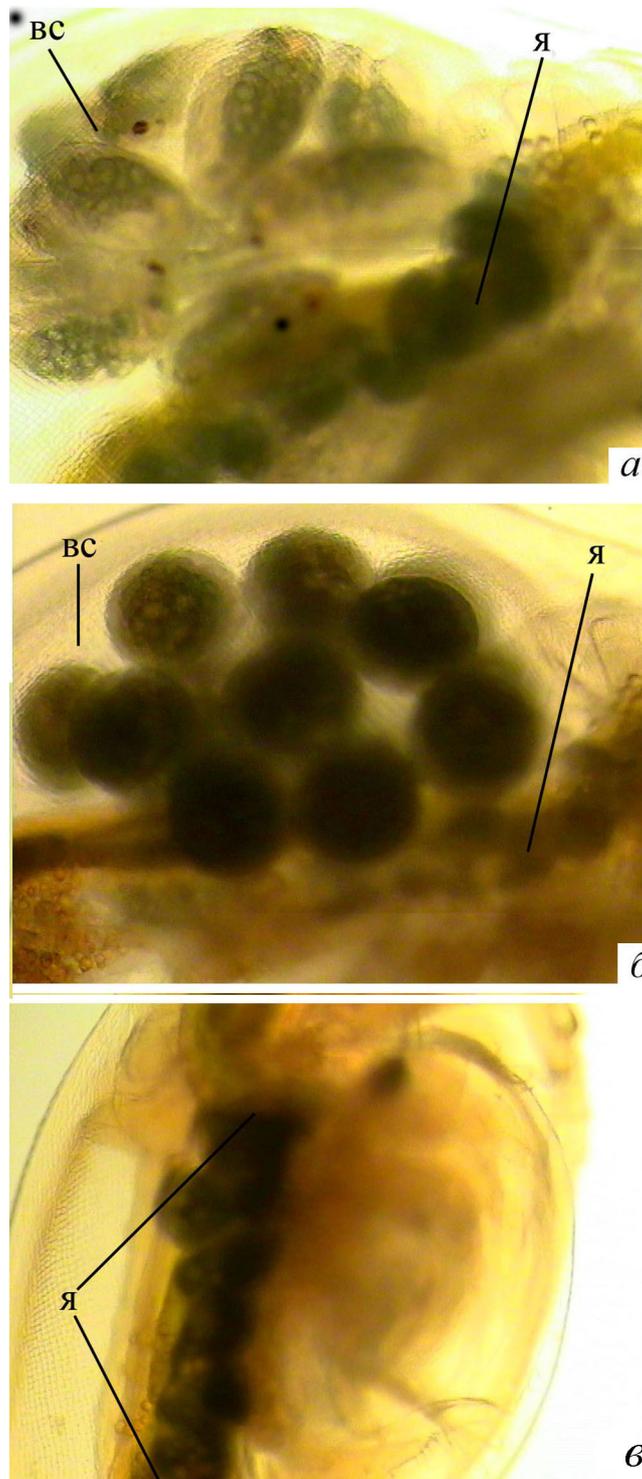


Рис. 1 – Состояние яичников на 6 сут экспозиции в растворах имидаклоприда. Концентрация инсектицида, мг/л: а – контроль, б – $3,0 \times 10^{-7}$, в – $3,0 \times 10^{-2}$; я – яичник, вс – выводковая сумка

На фотографиях видно, что на 6 сут экспозиции с увеличением концентрации токсиканта степень развития яичников падает. 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 в предыдущем эксперименте [14]. Степени 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 инсектицида концентрацией $3,0 \times 10^{-7}$ мг/л, яйца перешли из яичников в выводковую сумку, а следующая порция яйцеклеток в яичниках начинала накапливать желток (рис. 1б). В растворе $3,0 \times 10^{-2}$ мг/л в яичниках дафний наблюдали яйцеклетки на стадии накопления желтка (рис. 1в).

4. Выводы

Растворы имидаклоприда в сублетальных концентрациях $3,0 \times 10^{-7}$ и $3,0 \times 10^{-2}$ мг/л в 21 суточных тестах оказывают угнетающее действие на репродукцию и линейные размеры тела *Daphnia magna*. В ряду 4-х поколений у экспонированных в инсектициде рачков снижается плодовитость, а также уменьшается длина тела по сравнению с контролем. Анализ репродуктивных показателей и размера рачков свидетельствует об отсутствии адаптаций к действию сублетальных концентраций инсектицида на основе действующего вещества имидаклоприд в ряду 4-х поколений *Daphnia magna*.

Conflict of Interest

None declared.

Конфликт интересов

Не указан.

Funding

This study was carried out within the framework of a State Assignment no. 121051100109-1.

Финансирование

Эта работа выполнена по теме 121051100109-1 Государственного задания на 2021-2023 гг.

References

1. Jeschke, P. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids / P. Jeschke, R. Nauen, M. Schindler, A. Elbert // J. Agric. Food Chem. – 2011. – 59 (7). – P.2897–2908; DOI 10.1021/jf101303g
2. Nauen, R. In focus: neonicotinoid insecticides. / R. Nauen, P. Jeschke, L. Copping, // Pest Manag. Sci. – 2008. –64, – P.1081. <https://doi.org/10.1002/ps.1659>
3. CCME, Canadian Water Quality Guidelines: Imidacloprid. Winnipeg: The Canadian Council of Ministers of the Environment [Electronic resource]. – 2007. – URL: <https://ccme.ca/en/res/2007-imidnacloprid-cwqg-ssd-1388-en.pdf> (accessed: 10.01.2021)
4. Carrington, D. Pesticides linked to honeybee decline. 2012 [Electronic resource]. – URL: <https://www.theguardian.com/environment/2012/mar/29/crop-pesticides-honeybee-decline> (accessed: 10.01.2021)
5. Commission implementing regulation (EU) No 485/2013 of 24 May 2013. // Official Journal of the European Union.. [Electronic resource]. – URL: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/eur124027.pdf> (accessed: 10.01.2021)
6. 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
7. ГН 1.2.1323-03 Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень). / Минздрав России. Москва [Электронный ресурс]. – 2004. – URL: <http://www.gosthelp.ru/text/GN12132303Gigienicheskien.html> (дата обращения: 1.10.2021)
8. Клерман А.К. Влияние минерализации среды на токсичность меди и кадмия для пресноводных гидробионтов / А.К. Клерман, И.В. Чалова, С.А. Курбатова, Н.И. Клайн // Биол. внутр. вод. – 2004. – 2. – С.84–88.
9. Wong C.K. Survival and fecundity of *Daphnia pulex* on exposure to particulate oil / C.K. Wong, F.R. Engelgardt, J.R. Strickler // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1981. – 26. – 5. – P.606–612.
10. 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
11. Хлебович В.В. Некоторые аспекты фенотипической адаптации / В.В. Хлебович, В.Я. Бергер // Журнал общей биологии. – 1975. – XXXVI. – 1. 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.
14. 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

References in English

1. Jeschke, P. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids / P. Jeschke, R. Nauen, M. Schindler, A. Elbert // J. Agric. Food Chem. – 2011. – 59 (7). – P.2897–2908; DOI 10.1021/jf101303g
2. Nauen, R. In focus: neonicotinoid insecticides. / R. Nauen, P. Jeschke, L. Copping, // Pest Manag. Sci. – 2008. –64, – P.1081. <https://doi.org/10.1002/ps.1659>
3. CCME, Canadian Water Quality Guidelines: Imidacloprid. Winnipeg: The Canadian Council of Ministers of the Environment [Electronic resource]. – 2007. – URL: <https://ccme.ca/en/res/2007-imidnacloprid-cwqg-ssd-1388-en.pdf> (accessed: 10.01.2021)
4. Carrington, D. Pesticides linked to honeybee decline. 2012 [Electronic resource]. – URL: <https://www.theguardian.com/environment/2012/mar/29/crop-pesticides-honeybee-decline> (accessed: 10.01.2021)
5. Commission implementing regulation (EU) No 485/2013 of 24 May 2013. // Official Journal of the European Union.. [Electronic resource]. – URL: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/eur124027.pdf> (accessed: 10.01.2021)

6. 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
7. GN 1.2.1323_03 Gigiyenicheskiye normativy sodержaniya pestitsidov v ob"yektakh okruzhayushchey sredy (perechen'). [Hygienic standards for pesticide content in environmental objects (list).] [Electronic resource] / Minzdrav Rossii. Moscow. – 2004. – URL:<http://www.gosthelp.ru/text/GN12132303Gigiyenicheskiien.html> (accessed: 10.01.2021) [in Russian]
8. Klerman A.K., Vliyaniye mineralizatsii sredy na toksichnost' medi i kadmiya dlya presnovodnykh gidrobiontov [Effect of mineralization of medium for copper and cadmium toxicity for freshwater hydrobionts] / A.K. Klerman, I.V. Chalova, S.A. Kurbatova, N.I. Klayn // Biol. vnutr. vod. – 2004. – 2. – P. 84–8. [in Russian]
9. Wong C.K. Survival and fecundity of *Daphnia pulex* on exposure to particulate oil / C.K. Wong, F.R. Engelhardt, J.R. Strickler // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1981. – 26. – 5. – P.606–612.
10. 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
11. Khlebovich V.V. Nekotoryye aspekty fenotipicheskoy adaptatsii [Some aspects of phenotypic adaptation] / V.V. Khlebovich, V.YA. Berger // Zhurnal obshchey biologii. – 1975. – XXXVI. – 1. – P. 11–25. [in Russian]
12. Flerov B.A. Plodovitost' i razmery *Ceriodaphnia affinis* Lill. v ryadu pokoleniy pri deystvii bytovykh stochnykh vod [Fruitness and sizes of *Ceriodaphnia affinis* Lill. in a number of generations under the action of household wastewater] / B.A. Flerov, V.A. Gremyachikh, YU.G. Izyumov // Izvestiya AN. Seriya biologicheskaya. – 2003. – 3 – P. 375–377. [in Russian]
13. Kalinkina N.M. Uvelicheniye rezistentnosti *Simocephalus serrulatus* Koch pri akklimatsii k povyshennym kontsentratsiyam ionov kaliya [Increase in the resistance of *Simocephalus serrulatus* Koch during acclimation to increased concentrations of potassium ions] / N.M. Kalinkina, I.V. Pimenova I.V. // Biologiya vnutr. vod. – 2002. – 3 – P. 93–96. [in Russian]
14. 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