

---

## POLLUTION

---

DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2022.4.24.02>

Papchenkova G.A.\*

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences, Borok, Russia

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

Received: 03.07.2022; Accepted: 13.07.2022; Published: 19.08.2022

### THE TOXIC EFFECT OF A NUMBER OF PESTICIDES IN CONCENTRATIONS OF THEIR ACTIVE SUBSTANCES EQUAL TO TLV ON THE DEVELOPMENT OF *DAPHNIA MAGNA*

Research article

#### Abstract

Currently, pesticides are widely used in the world. At the same time, the indiscriminate use of pesticides has become a serious environmental problem, posing a big potential risk to non-target organisms. Pesticides or their breakdown products are found in natural reservoirs at sites of constant ecological and toxicological monitoring. The effect of a number of pesticides in concentrations of their active substances equal to TLV on the development of *Daphnia magna* was evaluated in the research. Aquatic organisms, including invertebrates, are used for ecological biomonitoring all over the world. The study was conducted on small model groups of newborn animals (younger than 24 hours). The effects on fertility rates, linear dimensions of daphnia were determined. The linear body dimension and fertility of small crustaceans were lower for all pesticides compared to the control group.

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

Папченкова Г.А.\*

Институт биологии внутренних вод Российской академии наук, Борок, Россия

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

Получена: 03.07.2022; Доработана: 13.07.2022; Опубликовано: 19.08.2022

### ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ РЯДА ПЕСТИЦИДОВ В КОНЦЕНТРАЦИЯХ ИХ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ РАВНЫХ ПДК НА РАЗВИТИЕ *DAPHNIA MAGNA*

Научная статья

#### Аннотация

В настоящее время пестициды широко используются в мире. В тоже время неизбирательное использование пестицидов стало серьезной экологической проблемой, представляя большой потенциальный риск для нецелевых организмов. Пестициды или продукты их распада обнаруживаются в естественных водоемах на участках постоянного эколого-токсикологического мониторинга. В этом исследовании оценивалось влияние ряда пестицидов в концентрациях их действующих веществ равных ПДК на развитие *Daphnia magna*. Водные организмы, в том числе беспозвоночные, используются для экологического биомониторинга во всем мире. Исследование проводилось на небольших модельных группах новорожденных животных (моложе 24 ч). Определены эффекты по показателям плодовитости, линейным размерам дафний. Линейный размер тела и плодовитость рачков были ниже для всех пестицидов по сравнению с контролем.

**Ключевые слова:** *Daphnia magna*, экотоксикология, пестицид, репродукция.

#### 1. Введение

В настоящее время невозможно предотвратить использование пестицидов в сельском хозяйстве. Они способствуют повышению урожайности, снижению трудоемкости производства сельскохозяйственных культур. В то же время неизбирательное использование пестицидов стало серьезной экологической проблемой, представляя большой потенциальный риск для нецелевых организмов. Обычно пестициды используются на пахотных землях, в садах, теплицах, но пестициды или продукты их распада обнаруживаются в естественных водоемах на участках постоянного эколого-токсикологического мониторинга [1]. Вода является важным природным ресурсом, который формирует

региональные ландшафты и имеет жизненно важное значение для благополучия человека и функционирования экосистем. Большая часть пестицидов довольно стабильна, в том числе и в водной среде. Не следует забывать и о кумулятивном эффекте. Опытным путем на нескольких пестицидах доказано, что они являются стойкими компонентами, которые сохраняются при очистке сточных вод, затем попадают в водоемы при значительной нагрузке и потенциально опасны для чувствительных водных организмов [2]. В свете этих фактов вполне возможно хроническое воздействие пестицидов на составляющие экосистемы.

В наших предыдущих исследованиях токсичности различных пестицидов на *Daphnia magna* наблюдалась обратная корреляция между выживаемостью, плодовитостью, линейным ростом, стадией партеногенетического размножения и концентрацией токсиканта [3], [4]. Возникла идея проверить воздействие токсического эффекта или отсутствие его на *D. magna* растворов пестицидов, в концентрациях соответствующих предельно допустимой концентрации (ПДК) их действующих веществ.

Цель работы – изучение влияния ряда пестицидов в концентрациях действующих веществ равных ПДК для водных объектов на рост и плодовитость *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 использовались: инсектицид Танрек – действующее вещество имидаклоприд, относится к классу неоникотиноидов, гербицид Торнадо (аналог Раундапа) – действующее вещество изопропиламинная соль или глифосат, который принадлежит к классу фосфоорганических соединений, фунгицид Топаз – действующее вещество пенконазол, относится к классу триазолов.

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 вышеперечисленных действующих веществ: имидаклоприд – 0,03 мг/дм<sup>3</sup> (№ 227), глифосат – 0,02 мг/дм<sup>3</sup> (№ 151) и пенконазол – 0,003 мг/дм<sup>3</sup> (№ 341) [5].

Биотестирование проводили на партеногенетически размножающейся лабораторной культуре *D. magna* в соответствии с инструкцией по тестированию [6]. Генетически однородных рачков, возраст которых был менее 24 часов, рассаживали в стаканы объемом 250 мл с 125 мл среды по 1 штучке в каждый, в 30 повторностях для каждой концентрации токсиканта и контроля непосредственно для тестирования и дополнительно 10 повторностей для фотографирования развития яичников после 6 дней экспозиции. В контроле использовали отстоянную водопроводную воду, насыщенную кислородом, на ней 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 x8. 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 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 обсуждение

Результаты эксперимента представлены в таблице 1. Анализ результатов по экспонированию *D. magna* в растворах пестицидов концентрацией равной ПДК для каждого действующего вещества показал, что хотя выживаемость была 100 % и гибели животных не наблюдалось, но общая плодовитость была ниже в токсикантах, а для Фунгицида на основе пенконазол и инсектицида на основе имидаклоприд достоверно ниже контрольной.

Таблица 1 – Плодовитость и размеры рачков *Daphnia magna* при экспозиции в растворах пестицидов концентрацией действующих веществ равных ПДК для водоемов

Пестицид – действующее вещество	Показатели плодовитости
Суммарное количество новорожденных на 1 самку за 21 сутки	
Контроль – вода	51,3 ± 4,1
Инсектицид – имидаклоприд 0,03 мг/дм <sup>3</sup>	40,4 ± 1,5*
Гербицид-глифосат 0,02 мг/дм <sup>3</sup>	48,8 ± 3,3
Фунгицид-пенконазол 0, 003 мг	38,0 ± 3,2*
Количество пометов за 21 сутки	
Контроль – вода	4,1 ± 0,2
Инсектицид – имидаклоприд 0,03 мг/дм <sup>3</sup>	3,2 ± 0,2*
Гербицид-глифосат 0,02 мг/дм <sup>3</sup>	3,6 ± 0,2*
Фунгицид-пенконазол 0, 003 мг	3,2 ± 0,2*
День появления 1-го выводка	
Контроль – вода	8,0 ± 0,3
Инсектицид – имидаклоприд 0,03 мг/дм <sup>3</sup>	11,8 ± 0,4*
Гербицид-глифосат 0,02 мг/дм <sup>3</sup>	9,6 ± 0,3*
Фунгицид-пенконазол 0, 003 мг	10,8 ± 0,4*
Линейные размеры особей на 21 день, мм	
Контроль – вода	3,7 ± 0,1
Инсектицид – имидаклоприд 0,03 мг/дм <sup>3</sup>	3,1 ± 0,1*
Гербицид-глифосат 0,02 мг/дм <sup>3</sup>	3,5 ± 0,1
Фунгицид-пенконазол 0, 003 мг	3,6 ± 0,1

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 токсикантов достоверно ниже контрольного. Линейный размер особей из раствора пестицидов только на уровне тенденции ниже особей из контроля, за исключением особей из раствора инсектицида, где достоверно ниже.

Считается, что ПДК – это величина, характеризующая максимальное количество вещества, которое может находиться в определенном объеме измерений и не причинять ущерба живым организмам (в том числе, и человеку). В нашем эксперименте растворы пестицидов в концентрациях равных ПДК оказывают негативное воздействие на плодовитость, то есть причиняют ущерб. Но говорить о том, что нормы ПДК завышены только по реакции одного гидробионта нельзя, так как для установления ПДК используют расчётные методы, результаты биологических экспериментов, а также материалы динамических наблюдений за состоянием здоровья лиц и объектов, подвергшихся воздействию вредных веществ. В последнее время широко используются методы компьютерного моделирования, предсказания биологической активности новых веществ.

Поступающие в водоемы токсиканты различной химической природы могут влиять на репродуктивную функцию беспозвоночных. Так, в хроническом 10-сут эксперименте показано негативное действие незначительных количеств Cu на репродуктивную функцию ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg за счет уменьшения индивидуальной плодовитости, при этом выявлена зависимость эффекта от степени минерализации воды [7]. Сырая нефть уменьшала плодовитость дафний *Daphnia pulex*, начиная с концентрации 1 мкл/л [8]. К сожалению, в вышеперечисленных работах с гидробионтами и некоторых других не сообщается насколько отличаются исследуемые «минимальные» концентрации от ПДК. Но есть исследования по другим объектам относительно ПДК. Например, «На состоянии растений и животных могут отражаться концентрации, существенно меньше ПДК. Загрязнения воздуха сернистым газом до концентрации в 10 раз меньшей ПДК вызывает хроническое или кратковременное поражение листьев растений, замедление роста, снижение урожайности» [9]. Также существенное влияние оказывают вредные вещества в концентрации ПДК, если их воздействие носит хронический постоянный характер, особенно это характерно для производственных зон [10]. Наши эксперименты по выявлению воздействия пестицидов на несколько поколений рачков, то есть хронического воздействия подтверждают ухудшение плодовитости, размеров особей, активность гидролаз и даже влияние на морфологические параметры [4], [11]. 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 пестициды оказывают на начало репродукции. Первый вымет у особей экспонируемых в растворах пестицидов 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). На фотографиях видно, что после 6 суток экспозиции степень развития яичников из растворов пестицидов (рис. 1б) 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 в предыдущем эксперименте [3].

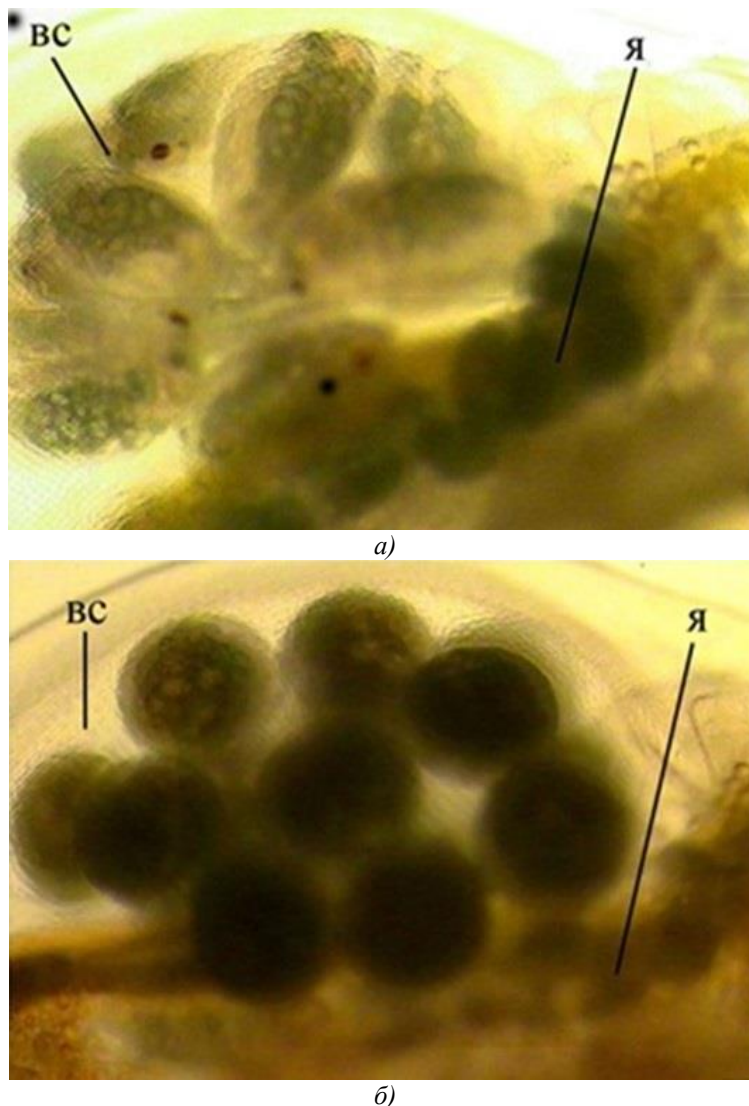


Рис. 1 – Состояние яичников после 6 сут экспозиции в растворах пестицидов:  
а – контроль, б – ПДК; я – яичник, вс – выводковая сумка

Степени развития яичников наглядно демонстрирует действие токсиканта на дафний (рис. 1а, 1б). 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 растворах пестицидов в концентрациях равным ПДК, яйца перешли из яичников в выводковую сумку, а следующая порция яйцеклеток в яичниках начинала накапливать желток (рис. 1б), но были отдельные особи, у которых яичники были менее развиты.

#### 4. Заключение

Проведенное исследование демонстрирует, явный отклик *D. magna* на присутствие в воде небольших количеств пестицидов, которые обнаруживаются при экотоксикологическом мониторинге водоемов. Растворы пестицидов в концентрациях равным ПДК их действующих веществ для российских водоемов оказывают угнетающее действие на репродукцию и линейные размеры тела *Daphnia magna*. Даже при такой незначительной концентрации у экспонированных в пестицидах рачков снижается плодовитость в результате торможения развития яичников по сравнению с особями в контроле.

#### Funding

This study was carried out on the topic 121051100109–1 of the State Assignment for 2021–2023.

#### Финансирование

Работа выполнена по теме 121051100109–1 государственного задания на 2021–2023 гг.

#### Conflict of Interest

None declared.

#### Конфликт интересов

Не указан.

## References

1. CCME Canadian Water Quality Guidelines: Imidacloprid [Electronic resource] – The Canadian Council of Ministers of the Environment. – Winnipeg, 2007. – URL: <https://ccme.ca/en/res/imidacloprid-en-canadian-water-quality-guidelines-for-the-protection-of-aquatic-life.pdf> (accessed: 24.06.2022)
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. – pp. 6199–6206. DOI: 10.1021/acs.est.6b01032
3. 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 – pp. 74–81. DOI: 10.7868/S0320965213040128
4. 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). – pp. 286–291. DOI: 10.1134/S1995082909030158
5. ГН 1.2.3539–18 Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов в объектах окружающей среды [Электронный ресурс]. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/557532326?marker=6540IN> (дата обращения: 24.06.2022)
6. OECD Guidelines for testing of chemicals [Electronic resource] // *Daphnia magna* Reproduction Test. – OECD, Paris – 1998 – URL: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948277.pdf> (accessed: 12.07.2022)
7. Клерман А.К. Влияние минерализации среды на токсичность меди и кадмия для пресноводных гидробионтов / А.К. Клерман, И.В. Чалова, С.А. Курбатова и др. // Биол. внутр. вод. – 2004. – 2. – С.84–88.
8. 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. – pp. 606–612.
9. Предельно допустимая концентрация (ПДК) [Электронный ресурс] // Википедия – URL: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Предельно\\_допустимая\\_концентрация](https://ru.wikipedia.org/wiki/Предельно_допустимая_концентрация) (дата обращения: 04.07.2022)
10. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [Electronic resource] // World health organization international agency for research on cancer. – V. 54 – URL: <https://web.archive.org/web/20090325155828/http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol54/volume54.pdf> (accessed: 25.06.2022)
11. 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.
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 *Simocephalus serrulatus* Koch при акклимации к повышенным концентрациям ионов калия / Н.М. Калинкина, И.В. Пименова // Биология внутр. вод. – 2002. – 3 – С.93–96.

## References in English

1. CCME Canadian Water Quality Guidelines: Imidacloprid [Electronic resource] – The Canadian Council of Ministers of the Environment. – Winnipeg, 2007. – URL: <https://ccme.ca/en/res/imidacloprid-en-canadian-water-quality-guidelines-for-the-protection-of-aquatic-life.pdf> (accessed: 24.06.2022)
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. – pp. 6199–6206. DOI: 10.1021/acs.est.6b01032
3. 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 – pp. 74–81. DOI: 10.7868/S0320965213040128
4. 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). – pp. 286–291. DOI: 10.1134/S1995082909030158
5. GN 1.2.3539–18 Gигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов в объектах окружающей среды [GN 1.2.3539-18 Hygienic standards for the content of active ingredients of pesticides in environmental objects] [Electronic resource]. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/557532326?marker=6540IN> (accessed: 24.06.2022) [in Russian]
6. OECD Guidelines for testing of chemicals [Electronic resource] // *Daphnia magna* Reproduction Test. – OECD, Paris – 1998 – URL: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948277.pdf> (accessed: 12.07.2022)
7. 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 et al. // Biol. vnutr. vod. [Biol. of inner waters] – 2004. – 2. – pp.84–88. [in Russian]
8. 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. – pp. 606–612.
9. Predel'no dopustimaya koncentraciya (PDK) [The threshold limit value (TLV)] [Electronic resource] // Wikipedia – URL: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Предельно\\_допустимая\\_концентрация](https://ru.wikipedia.org/wiki/Предельно_допустимая_концентрация) (accessed: 04.07.2022) [in Russian]
10. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [Electronic resource] // World health organization international agency for research on cancer. – V. 54 – URL:

<https://web.archive.org/web/20090325155828/http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol54/volume54.pdf> (accessed: 25.06.2022)

11. Papchenkova G.A. Vliyanie subletal'nyh koncentracij gerbicide Raundap na razmery, plodovitost' i morfologicheskie parametry *Daphnia magna* STRAUS (Cladocepa) [Impact of sub-lethal concentrations of herbicide Roundup on sizes, fertility and morphologic parameters of *Daphnia magna* STRAUS (Cladocepa)] / G.A. Papchenkova, L.P. Grebenyuk // Toksikologicheskij vestnik [Toxicological Bulletin]. – 2008 – 4 – pp.27–30. [in Russian]

12. Flerov B.A. Plodovitost' i razmery *Ceriodaphnia affinis* Lill. v ryadu pokolenij pri dejstvii bytovyh stochnyh vod [Fruitness and sizes of *Ceriodaphnia affinis* Lill. in a number of generations under the action of household wastewater] / B.A. Flerov, V.A. Gremyachih, Yu.G. Izyumov // Izvestiya AN. Seriya biologicheskaya [Bulletin of the AS. Biological series]. – 2003. – 3 – pp. 375–377. [in Russian]

13. Kalinkina N.M. Uvelichenie rezistentnosti *Simocephalus serrulatus* Koch pri akklimacii k povyshennym koncentraciyam ionov kaliya [Increase in the resistance of *Simocephalus serrulatus* Koch during acclimation to increased concentrations of potassium ions] / N.M. Kalinkina, I.V. Pimenova // Biol. vnutr. vod. [Biol. of inner waters]. – 2002. – 3 – pp. 93–96. [in Russian]