

УДК [628.394.17:623.95]:595.324.2

UDC [628.394.17:623.95]:595.324.2;

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА
ТОКСИЧНОСТИ ФУНГИЦИДОВ НОВЫХ
ПОКОЛЕНИЙ ДЛЯ ДАФНИЙ**

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF
FUNGICIDES OF NEW GENERATIONS TOXIC
TO DAPHNIA**

Федорова Елена Анатольевна
аспирант

Fedorova Elena Anatolyevna
postgraduate student

Левина Ирина Леонидовна
к.б.н.

Levina Irina Leonidovna
Cand.Biol.Sci.

Зинчук Ольга Анатольевна
к.б.н.

Zinchuk Olga Anatolyevna
Cand.Biol.Sci.

*Азовский НИИ Рыбного Хозяйства (ФГУП
«АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия*

*Azov Fisheries Research Institute, (FGUP AzNIRKH),
Rostov-on-Don, Russia*

В статье дана сравнительная оценка токсичности новых поколений фунгицидов на процессы жизнедеятельности дафний. Полученные данные хронического эксперимента позволили определить недействующие и пороговые концентрации исследованных веществ. Продемонстрирована различная интенсивность развития токсического эффекта проанализированных ксенобиотиков. Сделан вывод, что при попадании в водоем этих фунгицидов они могут быть опасны в первую очередь для зоопланктона, который является кормовой базой молоди рыб, что может неблагоприятно сказываться на развитии рыбного хозяйства

We have assessed the effect of the new generations of fungicides on the vital activity of daphnia. The data of the chronic experiment allowed us to determine non-effective and threshold concentrations of the substances studied. The toxic effect of the xenobiotics is shown to be of different intensity. When entering water they may be dangerous, first of all, for the zooplankton that is the food base of young fish, and may have unfavorable effects on fish development

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ФУНГИЦИДЫ, ТРИАЗОЛЫ, СТРОБИЛУРИНЫ, ТОКСИЧНОСТЬ, ВЫЖИВАЕМОСТЬ, ЗООПЛАНКТОН, ПЛОДОВИТОСТЬ, ЧИСЛЕННОСТЬ, БИОМАССА

Keywords: FUNGICIDES, TRIAZOLES, STROBILURINES, TOXICITY, SURVIVAL, ZOOPLANKTON, FECUNDITY, ABUNDANCE, BIOMASS

Введение. Современные фунгициды представляют собой эффективные высокоселективные соединения, которые, подобно лекарственным препаратам, действуют на специфические биохимические участки, важные для роста и развития патогена, или стимулируют защитные механизмы растения [1]. Наиболее перспективными остаются разработки, связанные с использованием фунгицидов с новыми механизмами действия [2].

Высокую фунгицидную активность проявляют гетероциклические соединения класса триазолы [3]. По числу системных фунгицидов они занимают первое место в мире [4]. Эти препараты эффективны при относительно малой норме расхода и активны против таких заболеваний расте-

ний, как ржавчина, мучнистая роса, септориоз, ринхоспориоз, сетчатая пятнистость, парша, оидиум, церкоспориоз. Большинство препаратов этого класса обладают системным действием, а целый ряд соединений используются как протравители семян. Механизм действия триазолов основан на ингибировании синтеза стеролов в грибной клетке, что приводит к нарушению процесса образования клеточных мембран патогенных грибов и их гибели.

За последние несколько лет на мировом рынке появились фунгициды, действующие на новые биохимические мишени, такие как цитохром bc_1 в митохондриях – стробилурины, которые стали использоваться в мировой сельскохозяйственной практике с 1999 года [5]. Они представляют собой препараты с широким спектром защитного и лечебно-профилактического действия для сельскохозяйственных культур. Трансламинарная активность выражается в закреплении фунгицида на поверхности растения после проникновения через восковой слой, далее циркуляции по растению вследствие газовой диффузии вместе с клеточным соком и достижения необрабатываемых поверхностей растения. Это создает надежный запас фунгицида для обеспечения высокоэффективной длительной, не зависящей от погодных условий защиты от заболевания [6].

По данным литературы, триазолы проявляют токсичность для водных организмов в диапазоне от умеренно токсичных до высокотоксичных соединений. Изучение влияния стробилуринов на водные объекты пока остается за рамками исследований. Тем не менее, использование этих фунгицидов в сельском хозяйстве, как современных средств защиты растений, увеличивается год от года, в результате возрастает опасность попадания их в водоемы.

Целью работы являлось сравнительная оценка токсичности современных фунгицидов производных 1,2,4 – триазолов и стробилуринов на представителей ветвистоусых ракообразных.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили дафнии *Daphnia magna Straus*. Генетически однородных рачков рассаживали в стаканы объемом 500 мл по 10 шт. в каждый, куда вносили растворы пестицидов. Опыты делали в 3 повторностях для каждой концентрации токсиканта и контроля. В качестве производных 1,2,4 – триазола были использованы технические продукты (действующие вещества) - *Протиконазол*, *Метконазол*. В качестве стробилуриновых фунгицидов использовали действующие вещества - *Пираклостробин*, *Трифлуксистробин*. Рачков ежедневно кормили хлореллой в концентрации 300 – 600 тыс. кл/мл. На основе выживаемости острых опытов (96 ч) рассчитывались токсикометрические параметры. В ходе хронического эксперимента (30 суток) были определены следующие показатели тест-объекта: период созревания – время (сутки) от рождения до первого помета, общее количество молоди, рожденное одной самкой в течение жизни, число пометов, количество молоди в одном помете, общее количество молоди, рожденное одной самкой в течение жизни, численность возрастных групп, биомасса популяции [7,8]. Исследовалось количество и качество потомства в четырех поколениях [9]. Полученные в экспериментах результаты подвергали статистической обработке, используя t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждения. Исследование воздействия фунгицидов на выживаемость дафний в острых опытах позволило определить среднелетальные концентрации пестицидов (таблица 1) и установить, что две группы выделенных нами фунгицидов отличались по интенсивности развития токсического эффекта, что сопровождалось существенными различиями в параметрах токсичности.

Наиболее токсичными оказались стробилурины, по рассчитанным среднелетальным концентрация острых опытов их можно отнести к группе особо токсичных пестицидов для дафний ($ЛК_{50} < 0,5$ мг/л). В свою очередь

производные триазола по степени острой токсичности для дафний относятся к группе высокотоксичных соединений ($0,5 \text{ мг/л} < \text{ЛК}_{50} < 5,0 \text{ мг/л}$).

Таблица 1 - Основные токсикометрические параметры фунгицидов для дафний в остром эксперименте (мг/л)

| Производные 1,2,4 - триазола | | Стробилурины | |
|------------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Протиконазол | Метконазол | Трифлуксистробин | Пиракlostробин |
| ЛК ₀ =0,19 | ЛК ₀ =0,009 | ЛК ₀ =0,000069 | ЛК ₀ = 0,000004 |
| ЛК ₁₆ =0,63 | ЛК ₁₆ =0,089 | ЛК ₁₆ =0,0003 | ЛК ₁₆ = 0,000008 |
| ЛК ₅₀ =0,92 | ЛК ₅₀ =0,509 | ЛК ₅₀ =0,0008 | ЛК ₅₀ = 0,000017 |

Для определения границ чувствительности рачков к действию фунгицидов были проведены хронические 30-ти суточные эксперименты, в которых изучали процессы жизнедеятельности дафний. Фунгициды были исследованы в следующих диапазонах концентраций:

- 0,006–0,09 мг/л для *Протиконазола*; 0,0001–5,0 мг/л для *Метконазола*;

- 0,0000031–0,0005 мг/л для *Пиракlostробина*; 0,000025–0,0016 мг/л для *Трифлуксистробина*.

В условиях хронической интоксикации может изменять рождаемость дафний либо путем снижения плодовитости или снижения выживаемости яиц и молоди, либо в связи с действием указанных факторов одновременно. Анализ результатов экспериментов по экспонированию дафний в растворах *Протиконазола* и *Метконазола* показал, что фунгициды в концентрациях 0,11 мг/л и 0,001 мг/л, угнетающе действовали на выживаемость и репродуктивную функцию рачков исходного поколения, которое было получено от неэкспонированных в фунгицидах на стадии оогенеза и эмбриогенеза материнских организмов. Плодовитость особей материнского поколения (исходного), экспонируемых в растворах фунгицидов, достоверно ниже плодовитости контрольных значений. Плодовитость экспонируемого в фунгицидах особей следующих поколений (1-3) также достоверно ниже плодовитости контрольного ряда. Снижение плодовитости

происходило за счет увеличения времени созревания и уменьшения количества пометов. В концентрациях 0,45 мг/л *Протиконазола*, и 1,0 мг/л *Метконазола*, снижение плодовитости достигло своих максимальных значений в третьем поколении и составляло 34 % и 58 % соответственно. 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 0,061 мг/л *Протиконазола*, и 0,0001 мг/л *Метконазола*.

Изучение возрастного состава популяции зоопланктеров при действии неблагоприятных факторов среды необходимо для прогнозирования колебаний численности организмов: снижение численности молодежи является симптомом неблагополучия, тем более что для кладоцер характерны популяции с постоянным возрастным составом [10].

Численность молодежи и половозрелых особей достоверно не отличалась от контроля в растворах с концентрациями 0,06 мг/л *Протиконазола* и 0,0001 мг/л *Метконазола*. Снижение общей численности популяций дафний начиналось в растворах с содержанием 0,11 мг/л *Протиконазола* и 0,001 мг/л *Метконазола*, где расхождения с контролем составляли 12 % и 27 % соответственно, при этом снижалось как количество молодежи, так и половозрелых особей. С увеличением концентраций фунгицидов признаки, характеризующие неблагоприятное состояние популяций характеризовались более ярко. Так, в растворах с максимальными исследованными концентрациями *Пиракlostробина* (0,45 мг/л) и *Метконазола* (1,0 мг/л) расхождение с контролем по показателю общей численности составило 46 % и 80 %, при этом количество молодежи снизилось на 53 % и 78 % соответственно, а половозрелых особей на 32 % и 82 %.

Фунгициды не оказывали существенного влияния на соотношение возрастных групп в популяциях дафний во всех исследованных растворах.

Ювенильные особи по численности доминировали над половозрелыми рачками

На биомассу популяции дафний *Метконазол* оказывал отрицательное влияние в растворах с концентрациями 0,001-1,0 мг/л, где она была ниже контрольных значений на 24-58 %. На уровне контроля биомасса популяции оставалась в растворах, содержащих 0,0001 мг/л *Метконазола*.

Аналогичные результаты получены при изучении влияния на физиологические показатели дафний стробилуринов. Анализ исследованных физиологических показателей показал, что с увеличением концентраций стробилуринов усиливалось их негативное воздействие на кладоцер. Отмечено дозозависимое снижение реальной плодовитости особей в исходном и трех последующих поколениях при действии исследуемых фунгицидов. Снижение плодовитости происходило за счет увеличения времени созревания и уменьшения количества пометов. Одновременно с увеличением концентраций стробилуринов происходило снижение численности и биомассы популяции дафний. Фунгициды не оказывали существенного влияния на соотношение возрастных групп в популяциях дафний во всех исследованных растворах. Ювенильные особи по численности доминировали над половозрелыми рачками.

В результате статистической обработки данных установлены недействующие (NOEC) и пороговые (LOEC) концентрации фунгицидов для ветвистоусых ракообразных по изученным показателям в хроническом эксперименте (таблица 2).

Таблица 2 - Недействующие (NOEC) и пороговые (LOEC) концентрации триазолов и стробилуринов для дафний (мг/л)

| Пестициды | Физиологические показатели | | |
|------------------------------|----------------------------|-------------|-----------|
| | Плодовитость | Численность | Биомасса |
| Производные 1,2,4 – триазола | | | |
| Протиконазол | | | * |
| NOEC | 0,06 | 0,06 | |
| LOEC | 0,11 | 0,11 | |
| Метконазол | | | |
| NOEC | 0,0001 | 0,0001 | 0,0001 |
| LOEC | 0,001 | 0,001 | 0,001 |
| Стробилурины | | | |
| Трифлуксистробин | | | |
| NOEC | 0,000025 | 0,000025 | 0,000025 |
| LOEC | 0,00005 | 0,00005 | 0,00005 |
| Пиракlostробин | | | |
| NOEC | 0,0000031 | 0,0000031 | 0,0000031 |
| LOEC | 0,0000062 | 0,0000062 | 0,0000062 |

* - для этого фунгицида соответствующие данные отсутствуют

Как видно из таблицы 2, наибольшее токсическое действие на биопараметры воспроизводства дафний оказывали стробилурины, где недействующие концентрации были представлены величинами 0,0000031 мг/л для *Пиракlostробина*; 0,000025 мг/л для *Трифлуксистробина*, а пороговые – 0,0000062 мг/л для *Пиракlostробина*; 0,00005 мг/л для *Трифлуксистробина*.

В группе фунгицидов производных триазола недействующие концентрации 0,0001 мг/л *Метконазол*, 0,06 мг/л *Протиконазола*, пороговые – 0,001 мг/л *Метконазола*, 0,11 мг/л *Протиконазола*.

Заключение. Результаты исследования, что изученные фунгициды новых поколений в сублетальных концентрациях оказывали угнетающее действие на выживаемость и биопараметры воспроизводства. Анализ среднелетальных концентраций, полученных в результате проведенных острых опытов, а также недействующих и пороговых концентраций фунгицидов, позволил определить, что наиболее токсичными для кладоцер

были ксенобиотики стробилуриновой группы *Пираклостробин* и *Трифлуксистробин*.

Таким образом, увеличение использования фунгицидов новых поколений (*Протиконазала*, *Метконазола*, *Пираклостробина*, *Трифлуксистробина*) в сельскохозяйственном производстве несет опасность, в первую очередь, для зоопланктона, который является кормовой базой молоди рыб, что может неблагоприятно сказываться на развитии рыбного хозяйства.

Список литературы.

1. Белан С.Р. Новые достижения в химии фунгицидов // *Агрохимия*. 2003. № 11. С. 27-32.
2. Захаренко В.А. Защита растений в третьем тысячелетии (Материалы XIV Международного конгресса по защите растений) // *Агрохимия*. 2000. № 4. С. 75-93.
3. Plimmer J.R. Analytical chemistry and the future of pesticides // *Environmental Science and Health* 1996. B31(4). P. 645-670.
4. Frederick M. Fishel Pesticide Toxicity Profile: Triazole Pesticides/ 2005. – <http://edis.ifas.ufl.edu/P1105>.
5. Рубчиц О.В. Компания БАСФ, политика успеха // *Сельскохозяйственные вести* 2005. № 4.
6. Колесова Д.А., Чмырь П.Г. Защита плодоносящих садов яблони и груши // *Защита и карантин растений. Приложение*. 2005. № 6. С. 49-119.
7. Лесников Л.А. Методика оценки влияния вод из природных водоемов на дафний. // *Методики биологических исследований по водной токсикологии*. М.: Наука, 1971. С. 157 – 158.
8. Методические рекомендации по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998. - 147 с.
9. Строганов Н.С., Колосова Л.В. Ведение лабораторной культуры и определения плодовитости дафний в ряде поколений. // *Методики биологических исследований по водной токсикологии*. М.: Наука, 1971. С. 210 – 216.
10. Гиляров А.М. Динамика численности пресноводных планктонных ракообразных. М.: Наука, 1987. – 189 с.