دراسة تأثير مبيد التوبسان فنجي برغوث الماء *Daphnia pulex*

مي حميد محمد الدهيمي
كلية علوم البيئة– جامعة القاسم الخضراء
Mayhameed85@yahoo.com

الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية معرفة تاثير تراكيز مختلفة تتراوح ما بين (5–14) ملغم/لتر من مبيد التوبسان في الافراد الفتية لبرغوث الماء العذب *Daphnia pulex* بعد مرور 24 ساعة من فترة التعرض لتلك التراكيز ايجاد التركيز القاتل لنصف اعداد احياء الاختبار LC_{50}، ومعرفة اهم التاثيرات التي يمكن ان تلاحظ في افراد الدافينيا عند التعرض لتلك التراكيز بعد فترة استمرت 21 يوما لكون هذه الايام الاولى من عمر افرادها هي الاكثر تأثرا بالملوثات. اظهرت النتائج ان LC_{50} لمبيد التوبسان كان 9.49 ملغم/لتر. وقد اشارت النتائج الى وجود فروق معنوية بين النسبة المئوية للهلاك التي كانت (91, 86, 82, 71, 60, 42, 33, 24, 11, 7) وتراكيز المبيد التي كانت ما بين (5–14) على التوالي والى وجود معاملات ارتباط ايجابية بين التراكيز ومعدلات اعداد الافراد الفاقدة لكيس البيض.
الكلمات المفتاحية: مبيد فطري، دلائل حيوية، LC_{50}

Abstract

This current study detail with known effect of topsin fungicide in different concentration (5-14) mg/l on individual of flea water *Daphnia pulex* after 24 h from exposure and if possible to find half lethal concentration that killed 50% from individual of *D. pulex* , and know the important effects that could be notice on it after exposure to these concentration for 21 days because the first days from cycle life of *D. pulex* are most sensitivity to pollutants. The result appeared that LC_{50} for topsin fungicide was 9.49 mg/l. also result showed a significant differentiation between percentage of mortality and concentration of pesticide, also found positive correlation coefficient between concentration and average of individual that lack sac of eggs.
Keywords: fungicides, bioindicators, LC_{50}

المقدمة

تعد النظم البيئية المائية مستودعا لعدد كبير من الملوثات البيئية الكيميائية التي يمكن أن تقيم اخطارها على الاحياء المائية بالاعتماد على عدد كبير من الفحوصات على مستوى المجتمعات المحلية، التي تعد عملية معقدة وطويلة يرافقها متغيرات كثيرة على مستوى المجتمع او على مستوى الملوث الكيميائي (Bayona *et.al.,* 2014)، لذا اخذت اكثر البحوث تميل الى استخدام مجتمعات احيائية يكاد يكون مسيطرا عليها لتعطي نتائج موثوق بها في فترات زمنية متلائمة مع حركة الملوث خلال البيئة وتتناسب مع دورة حياة ذلك الكائن ومن ثم دراسة كل ما لذلك الملوث من تاثير في اي تفصيل من تفاصيل حياة ذلك الكائن الحي وعليه اصبح من الضروري تطوير أو ايجاد كائنات حية في المياه لها قدرة عالية وحساسية كبيرة للملوثات البيئية (Barros *et.al.,* 2007) التي يمكن ان تتواجد في البيئة المائية وتمتلك مواصفات فريدة تؤهلها لتكون التقنية المعتمدة في قياس السمية البيئية لمختلف الملوثات الكيميائية، لذا ظهرت انواع من احياء من اهمها اللافقاريات المائية التي استخدمت على مستوى افراد أو على مستوى مجتمعات في تقييم التغيرات في البيئة من خلال استجابتها لمستويات مختلفة منها، اذ أمكن استخدامها كمؤشرات لفترة محددة في ظروف متغيرة من خلال تاثير هذه التغيرات على فسلجة او سلوك هذه الاحياء (Hodkinson and Jakson, 2005). ان هذا النوع من الاستجابة قد تحدث من خلال احداث تغيرات في كثافة المجتمع كالتأثير على اداء اللافقريات او تقليل معدلات هلاكها او تكاثرها. او ربما التاثير لفترات طويلة من خلال الانتقاءالجيني

(Diener *et.al.,*2004). من اهم هذه اللافقريات المقترحة هو جنس *Daphnia* والتي منها *D. pulex* والتي تعتبر كدلائل حيوية (Tonkopii and Iofina, 2007) على التغيرات الكيميائية التي تظهر في البيئات المائية لكونها من الهائمات الحيوانية في المياه العذبة السائدة ذات الحجم المتوسط ولها معدلات نمو مستمرة وعالية وسط ما بين الاحياء الدقيقة والنباتات والحيوانات الراقية ولديها فعالية مؤثرة وميكانيكيات تسمح لها بالانتشار الواسع واعادة تشكيل المستعمرات في المساكن المضطربة (Hodkinson *et.al.,* 2002) فضلا عن الى كونها شديدة الحساسية للتنوع البيئي الفيزيائي والكيميائي وعلى وجود سمية حادة او مزمنة (Emmanuel *et.al.,* 2004).

بالرغم من الاستخدام المكثف على المستوى الزراعي والحضري للمبيدات الفطرية والتحري على نطاق واسع عن هذه المبيدات في المياه السطحية والجوفية (Lewis *et.al.*, 2009) الا أنه ما زالت لا تتوفر البيانات الكافية لآثار هذه المبيدات على الأسماك واللافقريات في البيئة المائية. اذ حددت هذه المبيدات على انها مواد خطرة بسبب زيادة معدلات استخدامها وايجادها المتكرر في المياه السطحية (Lewis and Glendenning, 2009) او لتراكمها الحيوي (Rodrigues *et.al.,* 2013) او لثبوتيتها في البيئة وتاثيرها شبه القاتل في الاسماك واللافقريات المائية والانظمة البيئية من خلال تاثيرها في تكاثر الهائمات الحيوانية وتغيير مجتمعاتها (Chang *et.al.,* 2008; Zafar *et.al.,* 2012) وتاثيرات في الجهاز المناعي للاسماك وبالتالي المجتمعات السمكية وانزيمات الايض وفي عمليات الانظمة البيئية كتحلل المواد في المجاري المائية (Elskus, 2012) فضلا عن الى تاثيرات حيوية اخرى. اذ ان بعض هذه التاثيرات تظهر بتراكيز تؤثر بصورة حادة ومميتة في انواع معينة من الاحياء خلال فترة تعرض قصيرة قد تكون بضع ساعات وبعضها الاخر يظهر تاثيرات شبة قاتلة مزمنة قد تستمر لعدة اسابيع (Mangas-Ramirez *et.al*., 2007; Brink *et.al.,* 2000).

ان المبيدات الفطرية هي مبيدات ذو فعالية سامة لاسيما لبعض أنواع الفطريات الا انها في بعض الاحيان تظهر تاثيرات كيميائية حيوية و/او فسلجية في بعض الفقريات واللافقريات، لذا كانت هنالك دراسات عديدة عن تاثيراتها الكامنة في الاحياء التي لا تعد هدفا لها معتمدة على مبدأ كون المبيد ذا فعالية سامة منها دراسة كل من Hassold and Backhaus (2013) و Ochoa-Acuña *et.al.* (2009) و Belden *et.al.* (2010). وان للمبيد الفطري تاثيرات اضافية و/او تآزريه عند استعماله أو تواجده مع مبيدات اخرى فطرية او حشرية في البيئة المائية (Hassold and Backhaus, 2009). ولكونه جزء من المادة العضوية في الرواسب والاتربة لذا كان من الضروري معرفة تاثيراته في بعض الاحياء التي تعيش في المياه العذبة ولاسيما القاعية كالمحار او التي على اتصال بالرواسب كبعض اللافقريات القاعية كجنس *Daphnia* (Ochoa-Acuña *et.al.,*2009;Hassold and Backhaus, 2009).

Thiophanate-Methyl (TM) هو مبيد فطري نظامي من مجموعة benzimidazole واسمه التجاري Topsin (الوكيل، 2010)، يستخدم بصورة واسعة في حماية ومعالجة الاشجار والشجيرات وجذور بعض المحاصيل من مدى واسع من الفطريات الممرضة وفي معالجة الجروح الناجمة عن عملية التطعيم في الاشجار (APVMA, 2010).

تهدف الدراسة الحالية الى تحديد التركيز نصف القاتل لاحياء الاختبار للمبيد الفطري توبسان التي يمكن أن تتواجد في البيئة المائية كنتيجة لجرف الاراضي الحاوية عليها بعد معاملة المحاصيل بها او تساقطها من الجو اثناء المعاملة بها، ومعرفة اهم التاثيرات التي يمكن ان تلاحظ على الكائن عند التعرض

الى تراكيز مختلفة منه لاسيما ان الاحياء المستخدمة في تحديد هذا التركيز هي *D. pulex* تعد من الاحياء المهمة في تغذية الكثير من الاحياء المائية كبعض اللافقريات المائية والاسماك .

المواد وطرائق العمل

- مزرعة برغوث الماء *D. pulex*

ربيت وكثرت المزرعة الاصلية مختبريا في بيئة ماء نهر الفرات للحصول على اكبر عدد من الافراد الطبيعية لكي لا يحدث أي نقص في عدد الاحياء عند التحضير والتمهيد لتعريضها لتراكيز مختلفة من المبيد، ثم اخذ منها مزرعة اخرى حجمها 5 لتر (في وعاء زجاجي بابعاد 36 x 30 x 25 سم) حضنت في درجة حرارة (20 ± 2) وتحت اضاءة لمدة 12 ساعة وظلام لمدة 12 ساعة وعند اس هيدروجيني يتراوح ما بين (7.1 – 7.8) وتوصيلية كهربائية ما بين (700-800) مايكروسيمنس/سم وذلك تمهيدا لأخذ الأفراد الفتية منها قبل يوم من اجراء التجربة لضمان تساوي ظروف الاضاءة عليها. ان جمع الاحياء الى نهاية التجربة عليها بدأت من تشرين الاول 2013 الى نيسان من 2014 ، اذ استخدمت افراد الدافينيا اليافعة ذات العمر الاقل من 24 ساعة (Wells, 1999) لمعرفة سمية المبيد المسجل لدى وكالة حماية البيئة الامريكية لسنة 2002 لكونها من الاحياء شديدة الحساسية تجاه الملوثات، ثم خضعت هذه الاحياء للمراقبة بعد 24 ساعة من المعاملة ولمدة 21 يوم وفحصت نتائج المعاملة من خلال اعتماد ضعف حركة هذه الاحياء وميلها للاستقرار في القعر وعدم قدرتها على الحركة مجددا عند رج الوعاء الحاوي لها علامة على بدء هلاك هذه الاحياء (Barros *et.al.,* 2007) مع العلم ان هذه الاحياء لم تعان من الفقاعات المائية التي يمكن ان تعيق حركة هذه الاحياء في التنفس والتغذية.

- تحضير المبيد الفطري

لمعرفة تاثير هذا المبيد في افراد *D. pulex* حضر منه تراكيز مختلفة تتراوح ما بين (5- 14) ملغم/ لتر من محلول قياسي محضر سابقا ذو تركيز 50 ملغم/ لتر باستخدام قانون التخفيف وكذلك لتحديد التركيز المميت لنصف العدد من أحياء الاختبار، وقد اعتمدت طريقة Kitvatananchi *et.al.* (2005) في تحضير سلسلة من تلك التخافيف فضلا عن عينة السيطرة وبحجم 250 مللتر لكل 20 فرد من افراد *D. pulex* وبواقع خمس مكررات لكل تركيز من التراكيز المختلفة للمبيد للحصول على التركيز الذي يوقف حركة هذه الاحياء او يعمل على تقليل نشاطها (Altindağ *et.al.,* 2008). ولحساب التركيز نصف القاتل LC_{50} استخدمت معادلة الخط المستقيم [Y= bx + a (a= intercept, b= slope)] (Kitvatanachai *et.al*., 2005) ثم تسجيل نسب الهلاك بعد ٢٤ ساعة من المعاملة وصححت نسب الهلاك حسب معادلة Abbott (Abbott, 1925).

التحليل الاحصائي

حللت تجارب البحث وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) وثم استعمال اختبار اقل فرق معنوي (LSD) لبيان معنوية النتائج ، اضافة الى ايجاد معامل الارتباط (النعيمي وطعمة، 2008) .

النتائج والمناقشة

يبين جدول (1) النسبة المئوية لهلاكات افراد *D. pulex* بعد معاملتها بتراكيز مختلفة من مبيد التوبسان، اذ أظهرت النتائج أن النسبة المئوية لمعدلات الهلاك كانت اعلى قيمة لها 91 % عند تركيز 14 ملغم/لتر من المبيد واقل نسبة هلاك كانت 7 % عند تركيز 5 ملغم/لتر، وقد اظهرت النتائج وجود فروق معنوية ومعامل ارتباط ايجابي فيما بينها (شكل 1) مما يشير الى أن لهذا المبيد تاثير مميت على افراد *D. pulex*، اذ ان

وبحسب النتائج فان زيادة تركيز هذا المبيد قد عملت على زيادة نسبة هلاك افراد *D. pulex* والذي قد يعود سببها الى أن المبيد قد يكون قد شارك في الارتباط مع انزيمات مهمه في الاداء الحيوي وبذلك عرقل أو أوقف عملها (Soetaert *et.al.,* 2007) أو أن تراكمة داخلها قد سبب في زياده الجذور الحرة المؤكسدة التي سببت في هلاك بعض الأفراد الحساسة (Gleick *et.al.,* 2001). وفي بعض الدراسات فان سبب الهلاك هو ان السمية الحادة لهذا المبيد داخل جسم الكائن كانت اكبر من قدرته على اصلاح الضرر المتسبب عن المبيد (Guilhermino *et.al.*, 2000) أو إخراجه أو أيضة. أو أن أفرادها عانت من نقص حاد في كمية الاوكسجين داخل اجسامها والذي قد يعود الى ارتباط المبيد ببروتين الهيم (Venkatakrishnan *et.al.*, 2000) مما قد يفسر ربما تغير لون بعض افراد الدافينيا المعاملة بالمبيد. الا أنه في دراسات اخرى كانت افراد *D. pulex* تموت بسبب نقص الاوكسجين في الوسط الذي تعيش فيه كما في دراسة (2005) Deken and Woods ودراسة Fischer *et.al.*, (2011) نتيجة لوجود المبيد الا انه في هذه الدراسة لم يكن هنالك نقص في تركيز الاوكسجين المذاب في الوسط والذي تمت مراقبته خلال الدراسة. وأن بعض الدراسات أشارت الى أن المبيد الفطري يمكن ان يعمل كمادة مشجعة لنمو بعض الاحياء الممرضة لافراد *D. pulex* (Peters *et.al.,* 2013 ; Buijse *et.al.,* 2012) أو انها تنافسها على غذائها (Scherer *et.al.,* 2013)، أو أنها تعمل على تحويل التركيب الكيميائي للمبيد داخلها الى شكل اخر يكون اكثر سمية لها (Rodrigues *et.al.,* 2013 ; Jørgensen *et.al.,* 2012).

وقد أشارت النتائج (جدول 2) أن المبيد كان له تاثير معنوي في تكون افراد *D. pulex* لكيس البيض، اذ أظهرت النتائج أن اعداد الافراد غير المكونة لكيس البيض كانت تزداد بازدياد تركيز المبيد (شكل 2)، وان هنالك معامل ارتباط ايجابي فيما بينهما مما يشير الى أن لمبيد التوبسان تاثير في تكاثر افراد الدافينيا عبر منع تكوين كيس البيض أو اعاقة تكوينه والتي قد يكون سببها توجيه ايض الكائن لتكوين معقدات ترتبط بالمبيد كمحاولة لاحتجازه (Biesinger and Christensen, 2011)، أو أن المبيد عمل على تحطيم انزيمات مهمة في عملية التكاثر أو اعاق تكوينها (Kast-Hutcheson *et.al.*, 2001). في حين أن النتائج كانت متباينة لكل من التركيز 9 و 10 ملغم/لتر اذ كانت اعداد افراد *Daphnia* غير المكونة لكيس البيض بمعدل 5 و 10 افراد على التوالي وكذلك تركيز 11 ملغم/لتر الذي كانت اعداد افراد *Daphnia* غير المكونة لكيس البيض فيه بمعدل 8 افراد (شكل 2) اي بما يعادل نسبة (25 ، 50 ، 40)% على التوالي (شكل 3)، اذ ان اختلاف هذه النسب لمعدلات اعداد افراد الدفينيا غير المكونة لكيس البيض قد يعود الى اختلافات فردية بين افراد الدافينيا ودرجة استجابتها للتراكيز العالية من المبيد (Liess *et.al.,* 2006)، أو أنها نوع من انواع الاستجابة الفسلجية التي تصيب افراد الدافينيا عند تعرضها الى تراكيز حادة من المواد الكيمياوية التي يمكن ان تتواجد في البيئة المحيطة بها (Lovern *et.al.,* 2007)، أو ربما اختلاف الطرائق او الأليات التي يمكن أن تصنعها في محاولة منها لتجنب التراكيز العالية من المبيد والتي يمكن ان تستهلك كمية أقل من طاقة الأيض اللازمة لتكوين كيس البيض (Lawler *et.al.,* 2007)، أو أن بعض افرادها قد يعود الى التباين في السلالات ذات المحتوى الجيني الاكثر مقاومة مما يؤدي الى حصول مثل هذا التباين في الاستجابة (Silva *et.al.*, 2010).

اشارت النتائج أن التركيز القاتل لنصف افراد *D. pulex* كان 9.49 ملغم/لتر (شكل 1) وأن أفراد الدافينيا كانت تتباين في استجابتها لتاثيرات التراكيز المختلفة للمبيد، مع ذلك الا أن بعض الدراسات اشارت الى أن قيم التركيز القاتل لنصف افراد *D. pulex* يمكن ان تتغير في البيئة المائية الطبيعية بوجود مبيدات أخرى حشرية او فطرية أو مبيدات ادغال كما في دراسة Matsumoto *et.al.*, (2009) ودراسة

Coors and Fresche (2011)، أو أحيانا تقل تلك القيمة عند وجود تراكيز من بعض العناصر النزرة (Santore *et.al.,* 2002)، أو بعض المواد العضوية النايتروجينية (Domene *et.al.*, 2007)، او كنتيجة لحدوث تغيرات في تركيز الملوحة او درجات الحرارة (Kim *et.al*., 2010). وان هذه القيم تعتمد بالدرجة الرئيسة على نوع الغذاء المستعمل او الذي تعتمد عليه أفراد *D. pulex* في البيئة الطبيعية (Matsumoto *et. al*., 2009; Elert, 2002) مما يدل على انها قيمة متغيرة بحسب محيط افراد الدافينيا.

لقد تناولت هذه الدراسة تاثير المبيد الفطري التوبسان في البيئة المائية وهو أحد المبيدات الفطرية المستخدمة وعلى الرغم من هذه الدراسة استخدمت تراكيز ما بين (5-14) ملغم/ لتر لمعرفة التركيز القاتل لنصف اعداد الدافينيا من المبيد الا أن هذا لا يعني أن التراكيز الأقل من اقل تركيز مستخدم في الدراسة تعد امنة على افراد الدافينيا أو على البيئة المائية أو أحياء تلك البيئة اذ بحسب العديد من الدراسات يمكن لافراد الدافينيا أن تراكم كميات كبيرة من المبيدات داخل اجسامها عند وجود تلك المواد بكميات ضئيلة جدا في بيئتها لتنتقل فيما بعد الى الأحياء المستهلكة الأكبر ضمن السلسلة الغذائية.

جدول (1) تاثير تراكيز مبيد التوبسان في النسبة المئوية لهلاك أفراد *D. pulex* بعد التعرض لمدة 24 ساعة.

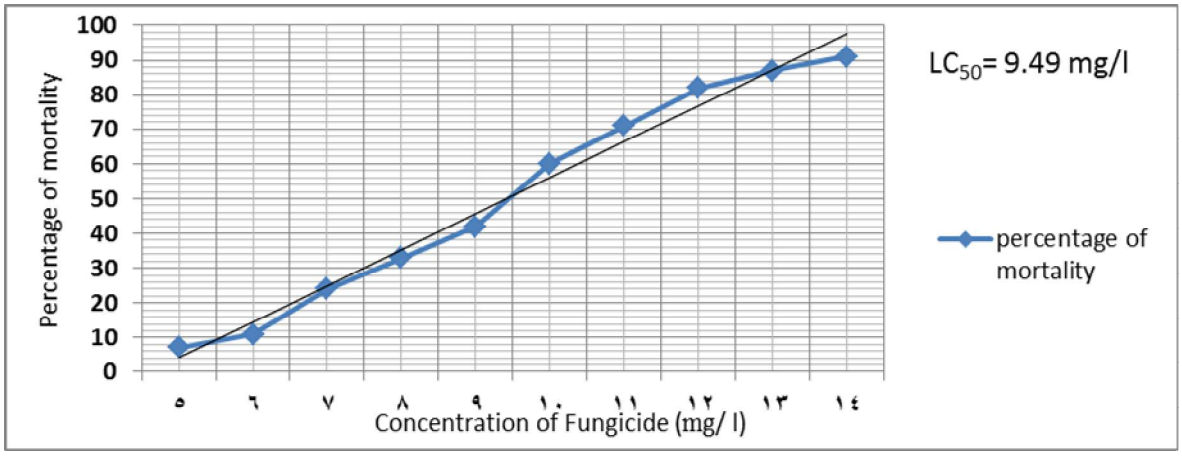
التركيز المبيد (ملغم/لتر)	النسبة المئوية للهلاك (%)
0	0
5	7
6	11
7	24
8	33
9	42
10	60
11	71
12	82
13	86
14	91

LSD=1.031 , r= 0.012

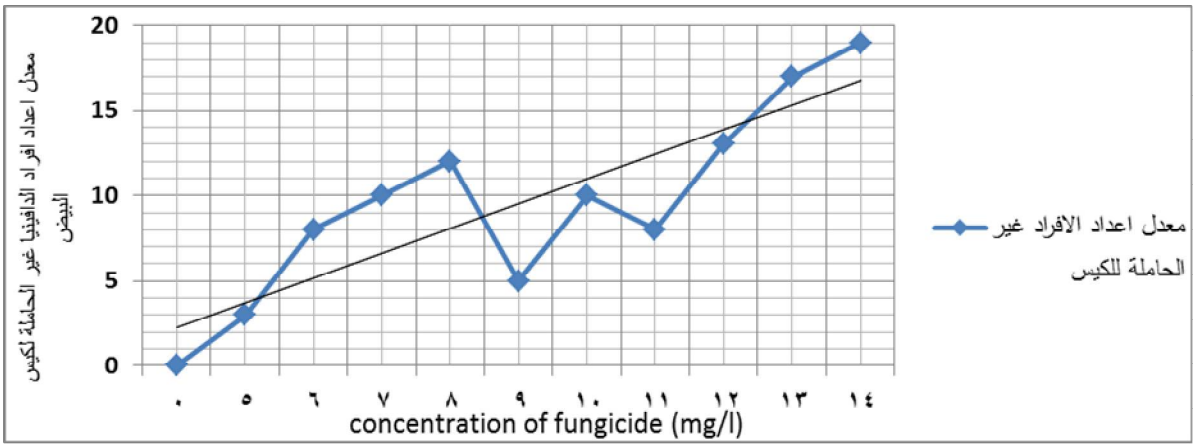
جدول (2) يبين معدلات أعداد أفراد *D. pulex* غير الحاملة لكيس البيض بعد تعرضها لتراكيز مختلفة من مبيد التوبسان.

تركيز المبيد (ملغم/لتر)	معدل اعداد افراد الدافينيا غير الحاملة لكيس البيض	النسبة المئوية لمعدلات اعداد افراد الدافينيا غير الحاملة لكيس البيض
0	0	0
5	3	15
6	8	40
7	10	50
8	12	60
9	5	25
10	10	50
11	8	40
12	13	65
13	17	85
14	19	95

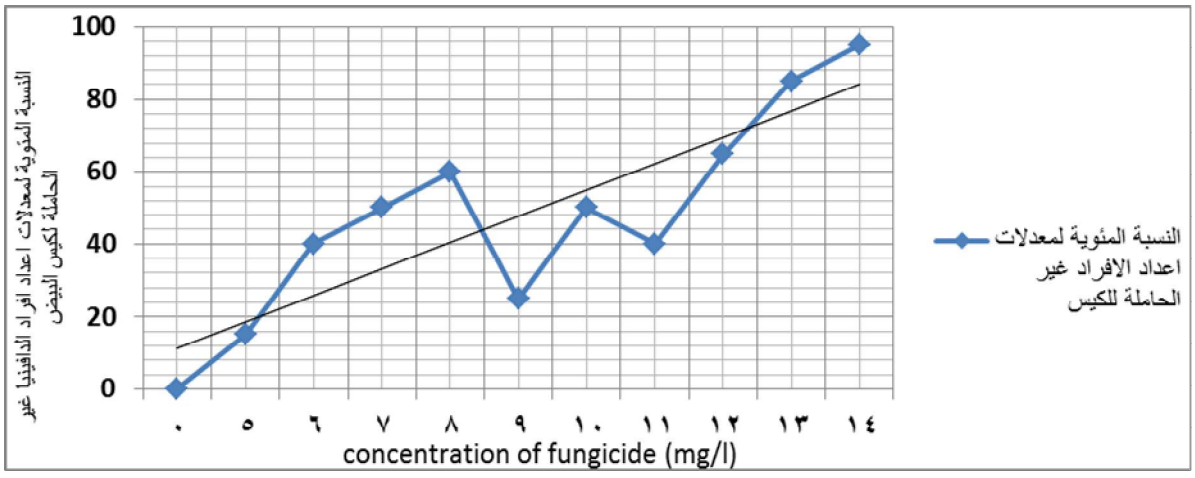
LSD=1.109 , r= 0.012



شكل (1) يبين قيمة التركيز نصف القاتل لافراد *D. pulex* بعد تعرضها لمدة 24 ساعة لتراكيز مختلفة من مبيد التوبسان.



شكل (2) يبين معدلات أعداد أفراد *D. pulex* غير الحاملة لكيس البيض بعد تعرضها لتراكيز مختلفة من مبيد التوبسان.



شكل (3) يبين النسبة المئوية لمعدلات أعداد أفراد *D. pulex* غير الحاملة لكيس البيض بعد تعرضها لتراكيز مختلفة من مبيد التوبسان.

المصادر باللغة العربية

النعيمي، محمد عبد العال و طعمة، حسن ياسين. (2008). الاحصاء التطبيقي. الطبعة الاولى، دار الاوائل للنشر والتوزيع، عمان، الاردن، ص: 1-425.

الوكيل، محمد عبد الرحمن. (2010). اهم الامراض التي تصيب امراض الزينة. مجلة علوم البيئة والتكنولوجيا، كلية الزراعة ، جامعة المنصورة، ص:1-13.

References

Abbott, W. S. (1925). Method of computing the effectiveness of an insecticide. J. E. Con. Entomol. 18: 265-267.

Altindağ, A.; Ergönül, M. B.;Yigit, S. and Baykan, Ö. (2008). The acute toxicity of lead nitrate on Daphnia magna Straus. African Journal of Biotechnology, 7 (23): 4298-4300.

APVMA (Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority). (2010) . Thiophanate-methyl preliminary review findings report: The reconsideration of the active constituent thiophanate-methyl, registration of products containing thiophanate-methyl and approvals of their associated labels . ISBN: 978-0-646-54058-0.

Barros, L. S. S.; Amaral, L. A. and Lorenzon, C. S. (2007). Daphnia magna – bio-indicator of pollution from poultry and pig abattoir Effluents. Rev. Bras. Saúde Prod. An., 8(3): 217-228.

Bayona, Y.; Roucaute, A.; Roucaute, M.; Gorzerino, C.; Cailleaud, K.; Lagadic, L.; Bassères, A. and Caquet, T. (2014). Secondary production of freshwater zooplankton communities exposed to a fungicide and to a petroleum distillate in outdoor pond mesocosms. Environmental Toxicology and Chemistry, (9): 1–11.

Belden, J.; McMurry, S.; Smith, L. and Reilley, P. (2010). Acute toxicity of fungicide formulations to amphibians at environmentally relevant concentrations. Environmental Toxicology and Chemistry, 29 (11): 2477–2480.

Biesinger, K. E. and Christensen, G. M. (2011). Effects of Various Metals on Survival, Growth, Reproduction, and Metabolism of Daphnia magna. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 29 (12): 1691-1700.

Brink, P. J. V.; Hattink, J.; Bransen, F.; E Donk, E. V. and Brock, T. C. M. (2000). Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. Aquatic Toxicology, 48 (2–3): 251–264.

Buijse, L. R.; Dimitrov, L. M. R.; Dohmen, P.; Kosol, S.; Maltby, L.; Roessink, I.; Sinkeldam, J. A.; Smidt, H.; Wijngaarden, V. R. P. and Brock, T. C. (2012). Effects of the fungicide metiram in outdoor freshwater microcosms: responses of invertebrates, primary producers and microbes. Ecotoxicology, 21 (5): 1550-69.

Chang, K. H.; Sakamoto, M.; Ha, J. Y.; Murakami, T.; Abara, Y. M.; Nakano, S.; Imai, H.; Doi, H. and Hanazato, T. (2008). Comparative Study of Pesticide Effects (Herbicide and Fungicide) on Zooplankton Community. Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry—Biological Responses to Chemical Pollutants, pp. 361–366.

Coors, A. and Frische, T. (2011). Predicting the aquatic toxicity of commercial pesticide mixtures. Environmental Sciences Europe, 23:22, Print ISSN 2190-4707.

Deken, A. and Woods, W. (2005). Seeing red: Daphnia and Hemoglobin. Amiddle school curriculum unit modeling ecological interactions and the signifigance of adaptations, Howard Hughes Medical Institute, Washington university science outreach .

Diener, L. C.; Schulte, P. M.; Dixon, D. G. and Greenberg, B. M. (2004). Optimization of differential display polymerase chain reaction as a bioindicator for the cladoceran *Daphnia magna*. Environmental Toxicology, 19 (3): 179–190.

Domene, X.; Josep, M. A. and Andre´s, P. (2007). Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan Folsomia candida. Applied Soil Ecology 35: 461–472.

Elert, E. V. (2002). Determination of limiting polyunsaturated fatty acids in Daphnia galeata using a new method to enrich food algae with single fatty acids. Limnol. Oceanogr., 47 (6): 1764–1773.

Elskus, A. A. (2012). Toxicity, Sublethal Effects, and Potential Modes of Action of Select Fungicides on Freshwater Fish and Invertebrates. U.S. Geological Survey Open-File Report, 44 p.

Emmanuel, E.; Keck , G.; Blanchard, J. M.; Vermande, P. and Perrodin, Y. (2004). Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. environment science safety, 32 (2): 139-146 .

Fischer, J. M.; Olson, M. H.; Williamson, C. E.; Everhart, J. C.; Hogan, P. J.; Mack, J. A.; Rose, K. C.; Saros, J. E.; Stone, J. R. and Vinebrooke, R. D. (2011). Implications of climate change for Daphnia in alpine lakes: predictions from long-term dynamics, spatial distribution, and a short-term experiment. Hydrobiologia, 676: 263-277.

Gleick, P. H.; Singh, A. and Shi , H. (2001). Emerging Treats To The World's fresh water resource. In cooperation with the United Nations Environment Programme, A Report of the Pacific Institute for Studies in Development, Environment, and Security, Oakland, California .

Guilhermino, L. H.; Diamantino, T.; Silva, M. C. and Soares, A. M. V. M. (2000). Acute Toxicity Test with Daphnia magna: An Alternative to Mammals in the Prescreening of Chemical Toxicity?. Ecotoxicology and Environmental Safety, 46: 357-362.

Hassold, E. and Backhaus, T. (2013). The predictability of mixture toxicity of demethylase inhibiting fungicides to Daphnia magna depends on life-cycle parameters. Peer J. PrePrints, 1: e172v1.

Hassold, E. and Backhaus, T. (2009). Chronic toxicity of five structurally diverse demethylase-inhibiting fungicides to the crustacean Daphnia magna: a comparative assessment. Environmental Toxicology and Chemistry, 28 (6): 1218-26.

Hodkinson, I. D. and Jackson, J. K. (2005). Terrestrial and Aquatic invertebrates as Bioindicators for Environmental Monitoring, with particular reference to mountain ecosystems. Environmental Management, 35 (5): 649-666 .

Hodkinson, I. D. ; Webb, N. R. and Coulson, J. (2002). Primary community assembly on land –the missing stages: why are the heterotrophic organisms always there first ?. Journal of Ecology, 90: 569-577.

Jørgensen, L. F.; Kjær, J.; Olsen, P. and Rosenbom, A. E. (2012). Leaching of azoxystrobin and its degradation product R234886 from Danish agricultural field sites. Chemosphere., 88 (5): 554-62.

Kast-Hutcheson, K.; Rider, C. V. and LeBlanc, G. A. (2001). The fungicide propiconazole interferes with embryonic development of the crustacean Daphnia magna. Environmental Toxicology and Chemistry, 20 (3): 502–509.

Kim, J.; Park, J.; Kim, P. G.; Lee, C.; Choi, K. and Choi, K. (2010). Implication of global environmental changes on chemical toxicity-effect of water temperature, pH, and ultraviolet B irradiation on acute toxicity of several pharmaceuticals in Daphnia magna. Ecotoxicology, 19 (4): 662-669.

Kitvatanachi, S.; Apiwathnasorn, C.; Leemingsawat, S.; Wongwit, W. and Tornee, S. (2005). Determination of lead toxicity in Culex quiquefasciatus mosquito in the laboratory. Southeast Asian J. Trpo .Med. Public. Health., 36 (4): 862-874.

Lawler, S. P.; Dritz, D. A.; Christiansen, J. A. and Cornel, A. J. (2007). Effects of lambda-cyhalothrin on mosquito larvae and predatory aquatic insects. Pest Management Science, 63 (3): 234–240.

Lewis, S. and Glendenning, L. (2009). A pesticide risk assessment for the horticultural lands of the Bowen/lower Burdekin Region. Australian Centre for Tropical Freshwater Research, James Cook University, Qld, 4811, ACTFR Report 09/27.

Lewis, S. E.; Brodie, J. E.; Bainbridge, Z. T.; Rohde, K.; Davis, A.; Masters, B.; Maughan, M.; Devlin, M.; Mueller, J. and Schaffelke, B. (2009). Herbicides: A new threat to the Great Barrier Reef. Environmental Pollution, 157: 2470-2484.

Liess, M.;Pieters, B. J. and Duquesne, S. (2006). Long-term signal of population disturbance after pulse exposure to an insecticide: Rapid recovery of abundance, persistent alteration of structure. Environmental Toxicology and Chemistry, 25 (5): 1326–1331.

Lovern, S. B.; Strickler, J. R. and Klaper, R. (2007). Behavioral and Physiological Changes in Daphnia magna when Exposed to Nanoparticle Suspensions (Titanium Dioxide, Nano-C60, and C60HxC70Hx). Environ. Sci. Technol., 41 (12): 4465–4470.

Mangas-Ramirez, E.; Sanchez, M. M.; Garcia-Martinez, Y. G.; Rodriquez, O. A.; Espinoza, S. G.; Luna-Ramirez, R. and Molina, H. A. (2007). Effect of benomile fungicide in the demographic parameters of Ceriodaphnia reticulate Jurine, 1820 (Crustacea: Cladocera). J. Environ. Sci. Health, Part A, 42, 1461–1466.

Matsumoto, K. I.; Hosokawa, M.; Kuroda, H. and Endo, J. (2009). Toxicity of Agricultural Chemicals in Daphnia magna. Osaka City Med. J., 55: 89-97.

Ochoa-Acuña, H. G.; Bialkowski, W.; Yale, G. and Hahn, L. (2009). Toxicity of soybean rust fungicides to freshwater algae and Daphnia magna. Ecotoxicology, 18 (4): 440-446.

Peters, K.; Bundschuh, M. and Schäfer, R. B. (2013). Review on the effects of toxicants on freshwater ecosystem functions. Environ Pollut., 180: 324-329.

Rodrigues, E. T,; Lopes, I. and Pardal, M. Â. (2013). Occurrence, fate and effects of azoxystrobin in aquatic ecosystems: a review. Environ Int., 53:18-28.

Santore, R. C.; Mathew, R.; Paquin, P. R. and DiToro, D. (2002). Application of the biotic ligand model to predicting zinc toxicity to rainbow trout, fathead minnow, and Daphnia magna. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 133 (1–2): 271–285.

Scherer, C.; Seeland, A.; Oehlmann, J. and Müller, R. (2013). Interactive effects of xenobiotic, abiotic and biotic stressors on Daphnia pulex-results from a multiple stressor experiment with a fractional multifactorial design. Aquat. Toxicol., 15:138-139.

Silva, R. M.; Pereira, F.; Carneiro, J. and Sobral, O. (2010). Microevolution in a Natural Population of Daphnia longispina Exposed to Acid Mine Drainage. Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry — Biological Responses to Contaminants, pp. 213–218.

Soetaert, A.; Ven, V. K.; Moens, L. N.; Vandenbrouck, T. Remortel, V. P. and Coen, d. W. M. (2007). Daphnia magna and ecotoxicogenomics: gene expression profiles of the anti-ecdysteroidal fungicide fenarimol using energy-, molting- and life stage-related cDNA libraries. Chemosphere, 67 (1): 60-71.

Tonkopii, V. and Iofina, I. (2007). The usage of Daphnia magna as alternative bioobject in ecotoxicology. Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments, AATEX 14, Special Issue, pp: 565-567.

US EPA (United states Environmental Protection Agency). (2002). Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA) Inspection Manual. Office of Enforcement and Compliance Assurance, Office of Compliance, 1200 Pennhington DC, 20460, 305b-02-001.

Venkatakrishnan, K.; Moltke, V. L. L. and Greenblatt, D. J. (2000). Effects of the antifungal agents on oxidative drug metabolism: clinical relevance. Clin. Pharmacokinet, 38 (2): 111–80.

Wells, P. G. (1999). Aquatic Toxicology-concept and practice. 2nd ed. In press General and Applied Toxicology.

Zafar, M. I.; Belgers, J. D. M.; Wijngaarden, R. P. A. V.; Matser, A. and Brink, P. J. V. (2012). Ecological impacts of time-variable exposure regimes to the fungicide azoxystrobin on freshwater communities in outdoor microcosms. Ecotoxicology, 21 (4): 1024–1038.