

농약의 급성독성 평가를 위한 담수생물의 감수성 비교연구

신 천 철* · 이 성 규* · 노 정 구*
(1986년 11월 5일 접수)

Comparison of the Susceptibility of Freshwater Organisms for the Acute Toxicity Test of Pesticides.

Chun Chul Shin,* Sung Kyu Lee*, Jung Koo Roh*

ABSTRACT

This study was performed to determine the aquatic toxicity of 3 chemicals(butachlor, trichlorfon, and BPMC) to 3 test organisms (fish, crustacean, and algae) which represent each trophic level in freshwater ecosystem, and to compare the sensitivity of these organisms to 3 chemicals with short-term test.

Scenedesmus subspicatus, unicellular algae, was the most sensitive species of 3 organisms to butachlor and the ratio between least and most sensitive organisms was 5.7. *Moina rectirostris*, freshwater invertebrate, was also more sensitive organism than *S. subspicatus* and *Oryzias latipes* to trichlorfon and BPMC, and their ratios were 260,000 and 5,090. As a result, remarkable differences were observed in the sensitivities among the test organisms with different chemical structure and mode of action of the chemicals.

Therefore, it is recommended that a set of tests on different species, including the representative species of fish, invertebrate, and algae, should be required in short-term aquatic toxicity test for chemicals introduced into the Korean environment.

서 론

수생생물에 대한 농약을 포함한 여러 가지 화학물질의 독성에 대한 평가는 실험실적 생물검정(Bioassay)에 의하여 주로 행해져 왔으며 이러한 실험결과들은 여러 화학물질에 대해 수생생물을 보호하기 위한 수질 기준을 설정하는데 기본적으로 사용되어 왔다.⁽¹⁾

그런데 이러한 화학물질의 aquatic toxicity를 실험실적 생물검정을 통해서 평가하고 그 결과가 합리적

로 널리 이용되기 위해서는 다음과 같이 5가지 관점에 주안점을 두어 생물검정을 해야 한다.

즉 1) 생물에 대한 화학물질의 영향을 예측할 수 있어야 하고(predictive capability) 2) 종간 및 화학물질간 비교가 가능해야 하며 3) 실험장치 및 과정이 단순해야 하고 4) 실험결과를 상호 비교할 수 있어야 하며 5) 이 결과를 실제에 적용할 수 있어야 한다.⁽²⁾

따라서 화학물질의 aquatic toxicity를 평가하는데 있어서 세계적인 추세는 실험동물생산, 실험방법, 자료처리 등에 있어서 표준화(Standardization) 및 조화

* 한국화학연구소, (Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 9, Dae Deog Danji, DaeJeon, 300-32, Korea.)

(Harmonization)에 두고 있으며 실험방법도 단일생물종(single species)에서 여러 생물종(Multi species)으로 급성독성에서 만성독성 평가로 옮겨가고 있고, 이외에 microecosystem이라든가 실제 야외실험을 통하여 독성을 평가하고 있으므로 "Set화 및 단계적 독성실험(stepwise toxicity test)방법"이 일반화되고 있는 실정이다. (8-10)

그런데 우리 나라의 경우 농약등록시 부과되는 aquatic toxicity자료는 잉어(*Cyprinus carpio*) 단일종에 대한 급성독성값만을 요구하고⁽¹¹⁾ 미국 EPA나 OECD 여러 나라에서 요구하고 있는 것과 같은 어류, 무척추동물 조류 등 수중 생태계내 각 먹이단계를 대표할 수 있는 각생물에 대한 여러 가지 독성에 대한 자료는 요구하고 있지 않는 형편이다.

그런데 농약은 그 자체의 화학적 구조와 독성 발현 메카니즘에 따라서 미치는 영향 정도가 다르고 농약의 종류 및 생물의 종류에 따라서도 독성 및 감수성이 다르다고 알려져 왔다.^(12,13) 또한 외국에서 도입되는 화학물질로부터 우리나라 산업 및 환경을 보호하기 위한 한 방편으로 다양한 생물검정법을 이용할 수 있으며, 또 국내에서 개발된 화학물질의 수출을 위한 aquatic toxicity 자료를 위해서라도 선진국에서 요구되어지고 있는 여러가지 담수생물에 대한 독성평가 방법의 확립이 시급한 실정이다.

따라서 본 연구는 화학물질의 aquatic toxicity 평가 방법을 확립하기 위한 연구의 일환으로 우리 나라에서 널리 사용되고 있는 농약 중에서 3종을 선택하여, 송사리(*Oryzias latipes*), 물벼룩(*Moina rectirostris*), 조류(*Scenedesmus subspicatus*)에 대한 short term aquatic toxicity를 평가하여 각 농약에 따른 수서생물의 감수성의 차이를 밝히고 아울러 실제 야외에서 이러한 수서생물에 대해 농약이 미칠 영향에 대해 고찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험농약 및 처리농도

본 실험에서 사용된 농약은 제초제 butachlor, 살충제 trichlorfon과 BPMC로 화학명 및 순도는 다음 Table I과 같다.

표준용액의 조제는, butachlor와 BPMC는 acetone (Algae)과 DMSO(Fish, Invertebrate)를 용매로 사용하였고, 특히 BPMC인 경우 분산제 HCO-30을 소량 넣었다.

Trichlorfon의 경우는 물에 대한 용해도가 높으므로⁽¹⁴⁾ 직접 실험수에 넣어 사용하였다.

Table 1. Agrochemicals used in this test

Common name	Chemical Name	Purity %
Butachlor	2-chloro-2', 6'-diethyl-N-(butoxymethyl)acetanilide	Technical 89.57
BPMC	O-sec-butylphenyl methylcarbamate	Technical 96
Trichlorfon	Dimethyl 2, 2, 2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate	Technical 96.5

처리농도는 log-scale로 등간격으로 분포하도록 하였으며 대조구에는 각 농약별로 가장 높은 농도에 들어가는 양의 용매 및 분산제를 처리하였다.

2. 공시생물

본 실험에 사용된 공시어류는 담수산 송사리(*Oryzias latipes*)로서 1984년 10월 충남 대덕군 탄동면 자운리 소하천에서 채집망으로 치어를 채집하여 본 연구실로 운반하여 사육조에서 순화시킨 2.5cm 정도의 건강하고 활력이 있는 것을 사용하였고, 담수산 무척추동물은 crustacean인 *Moina rectirostris*로서 역시 송사리 채집 인근 장소에서 1985년 7월 중 채집하여 Standard method⁽¹⁵⁾ 및 *Daphnia*배양법⁽¹⁶⁾에 따라 조제한 culture media에서 1년 이상 계대 사육한 것 중 1마리 성체에서 생산된 *M. rectirostris*를 사용하였다.

또한 실험에 사용된 조류인 *Scenedesmus subspicatus*는 단세포 녹조류로서 영국의 Institute of Terrestrial Ecology에서 분양받아 Gorham's modified nutrient⁽²³⁾에 배양하여 대수 성장기의 조류를 실험에 사용하였다.

3. 실험방법

본연구의 실험방법 및 독성평가의 판단기준은 Table 2와 같다. 이는 OECD의 기준으로서 이 기준에 맞게 각종 환경조건을 유지하였다. 실험수는 송사리인 경우 수돗물을 탄소 filter을 이용하여 탈염소시킨 후 기포발생기로 충분히 aeration시킨 다음 가온기로 온도를 맞추어 사용하였고 *M. rectirostris* 경우는 *Daphnia pulex*용 culture media⁽¹⁶⁾를 조제하여 실험에 사용하였다. 이 media의 hardness는 80-90 mg/l as CaCO₃였다.

실험에 사용한 실험수의 수질특성은 pH는 6.5-7.1, hardness는 52 mg/l as CaCO₃였다.

공시어류는 실험 24시간전에 절식한 후 실험에 사용하였다. *S. subspicatus*에 대해서는 성장률 측정을 위하여 24시간 마다 Spectrophotometer (BAUSCH & LOMB, spectronic 21)와 Hemacytometer 및 Palmer-Melony counting chamber(Thomas scientific, 9853-N10)을 이용하여 측정하였고 *M. rectirostris*의 EC₅₀ 값을

Table 2. Test organisms, experimental conditions and toxicological criteria in this study.

Test species	Age/Stage	Exposure time (days)	Number of organisms	Test volume (l)	Temperature(°C)	Lighting	Dosing	Criteria
Fish test								
<i>O. latipes</i>	6 month	4	20	5	23±2°C	circadic ^a	continuous	Mortality
Crustacean test								
<i>M. rectirostris</i>	≤24 hrs.	2	30	0.1	25±1°C	circadic ^a	static	Mobility
Algal growth test								
<i>S. subspicatus</i>	log-phase	4	1×10 ⁴	0.1	23±2°C	≥4,000 Lux	static	Growth (biomass)

^a14 hrs. Light; 10hrs. Dark

위한 독성평가는 약 5초간 dish 속의 실험수를 막대로 저어준 후 움직임이 관찰되지 않는 것을 기준하였으며 *O. latipes*의 경우 유리막대기로 자극하여 움직임이 없는 것을 치사한 것으로 간주하였다. 특히 어류를 이용한 실험에서는 매 24시간마다 수조내 DO, pH 및 온도를 측정하였으며, L(E)C₅₀값의 계산은 Litchfield-wilcoxon방법⁽¹⁷⁾을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 농약의 급성독성 평가

3종의 실험종에 대한 각 농약별 급성 독성값은 Table 3과 같다. Butachlor의 경우 조류인 *S. subspicatus*에 대한 EC₅₀값이 0.23 mg/l로 *M. rectirostris* 및 *O. latipes*에 대한 급성독성값보다 낮아 조류에 대한 영향이 가장 컸다. 이는 butachlor의 작용기작이 식물체의 단백질 합성을 저해하여 식물의 성장을 억제하므로⁽¹⁴⁾ 조류의 경우도 이의 영향이 아닌가 생각된다. 또 실제 수도작에서 관행사용량에 의한 논에서의 butachlor 농도를 계산해보면 약 4.5-6mg/l이고, 이때 살포후부터 4일 동안 토양에 흡착된 농도가 노동⁽¹⁸⁾의 연구결과에 따르면 약 1.5-2.0 mg/l이므로 식물체에 흡수된 것을 고려하더라도, 물에서의 농도는 약 1-2mg/l가 되리라 추정된다. 따라서 이런 농도가 4일정도 지속된다면 논에 있는 조류의 성장에 영향을 줄 것으로 생각되며,

어류인 송사리에 대해서도 영향이 있으리라 사료된다. 그러나 노동⁽¹⁹⁾에 의하면 야외에서 부착성조류의 생육 및 biomass에 미치는 butachlor의 영향을 본 결과, 큰 영향을 주지 않은 것으로 보고한 바 따라서 이러한 결과의 차이는 야외에서 생태계 분석에 따르는 여러가지 문제점과 환경인자의 영향 등에 기인되는 것으로 사료되므로 앞으로 더 규명되어야 할 과제이다.

Trichlorfon과 BPMC는 butachlor와 달리 *S. subspicatus*에 대해서는 거의 독성이 없다고 볼 수 있으며, *O. latipes*에 대해서는 미국의 농약분류기준⁽²⁰⁾에 따르면 Group IV(>50 ppm) 및 III(5-50 ppm)에 속하여 거의 독성이 없는 수준 내지는 약간 독성이 있는 것으로 나타났다.

그러나 *M. rectirostris*에 대해서는 48 hr-EC₅₀값이 0.0011 mg/l 및 0.011 mg/l로 대단히 독성이 강한 것으로 나타났다. 따라서 이들 농약이 살포되는 곳 및 인근 수체에 서식하고 있는 갑각류(crustaceans)에는 큰 영향을 줄 것이 우려된다. 실제로 이등⁽²²⁾ 등이 보고한 바에 따르면 trichlorfon을 ha당 670g을 항공살포했을 때 산림내 계곡 물에서의 trichlorfon의 농도가 약 4일 동안 0.03 mg/l 이상이 유지되므로 이러한 우려를 뒷받침해 주고 있다. 그러나 일반적으로 유기인계 및 카바메이트계 농약은 갑각류에 대해 독성이 현저하다고 알려져 있고⁽¹³⁾, trichlorfon의 *Daphnia pulex*에 대한 48 hr-EC₅₀값이 0.18 µg/l⁽²²⁾로 기록되어 있어 본 결과에 거의 일치됨을 알 수 있다.

Table 3. Comparison of results (mg/l) of short term tests with three organisms.

Organisms	Parameter	Criteria	Compounds		
			Butachlor	Trichlorfon	BPMC
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	4d EC ₅₀ ^a	growth	0.23	290	>56
<i>Moina rectirostris</i>	2d EC ₅₀	mobility	1.3	0.0011	0.011
<i>Oryzias latipes</i>	4d LC ₅₀ ^a	mortality	0.58	70	11

^a The lethal (or effective) concentration that gives 50% inhibition of the measured criteria.

2. 농약별 실험종의 감수성 비교

농약별로 각 실험종에 대한 독성의 차이를 최저독성 값으로 최고독성값을 나눈 비율로 비교한 결과는 다음 Table 4와 같다.

Table 4. Ratio's between least sensitive and most sensitive organism in short-term test(L(E)C₅₀ in mg/l)

Compounds	$\frac{\text{highest L(E)C } 50}{\text{lowest L(E)C } 50}$	Organisms
Butachlor	$\frac{1.3}{0.23} = 5.7$	<i>M. rectirostris</i> <i>S. subspicatus</i>
Trichlorfon	$\frac{290}{0.0011} = 260,000$	<i>S. subspicatus</i> <i>M. rectirostris</i>
BPMC	$\frac{>56}{0.011} = >5,090$	<i>S. subspicatus</i> <i>M. rectirostris</i>

* The lethal(or effective) concentration that gives 50% inhibition of measured criteria.

제초제인 butachlor는 그 비율이 5.7로 trichlorfon이나 BPMC보다 실험종에 따른 독성의 차이가 낮으나 다른 2가지 농약과는 달리 조류인 *S. subspicatus*에 대한 독성이 특히 강하므로 농약의 aquatic toxicity 실험에 조류를 1종 이상 포함시켜야 하는 기존 실험방법의^(4,7,10) 당위성을 입증한다고 볼 수 있다.

Trichlorfon은 독성값이 가장 낮은 *M. rectirostris*와 가장 높은 *S. subspicatus* 2종 간의 비율이 260,000나 되어 *M. rectirostris*가 *S. subspicatus*보다 260,000배나 더 trichlorfon에 대해 민감함을 보여 주었다. 마찬가지로 BPMC의 경우도 *M. rectirostris*가 *S. subspicatus*보다 약 5090배나 더 BPMC에 대해 감수성이 높았다.

따라서 이상의 결과로 미루어 볼 때 농약에 따라 실험종에 대한 독성이 종간에 큰 차이를 보여 준다는 사실이 명백해졌고, 또 농약의 구조나 작용기작에 따라 독성발현 양상이 종간에 차이가 있다는 기존결과^(9,13)와 종합해 볼 때 다음과 같은 결론에 도달할 수 있겠다.

즉 농약 내지 화학물질의 aquatic toxicity를 생물검정하는 경우에는 적어도 수중생태계 내의 먹이 단계를 대표하는 몇 종의 생물에 대해 독성을 검정하는 것이 필수적이며, 비록 감수성이 높은 단일종으로 독성을 검정한다고 하더라도 이 결과로 다른 종들에 대한 영향 여부를 예측하는 것은 어렵다고 생각된다. 따라서 급성독성이 제 1차적인 독성시험 단계라하나 2차 및 3차 단계의 독성시험의 기초가 되는 만큼 그 중요성을 인

식하여, 선진각국에서 채택하고 있는 여러가지 실험방법을^(4,7,8,17,19) 참고하여 우리나라에서도 우리에게 적합한 실험종의 선정 및 실험방법의 확립에 힘써야 할 것으로 생각된다.

본 실험을 수행하는데 실험농약을 제공해 주신 한국화학연구소 조광연실장님, 제철화학 이종길차장님, 또 실험동물 생산 및 독성실험을 도와준 윤홍길씨께 감사드립니다.

요 약

본 실험은 3종의 농약(butachlor, trichlorfon, BPMC)에 대하여 3가지 실험종인 *S. subspicatus*, *M. rectirostris*와 *O. latipes*에 대해 급성독성실험을 실시하여 급성독성을 평가하고 이를 기초로 하여 각 실험종간의 민감도를 비교하였다.

1) 제초제 butachlor의 96시간 및 48시간의 급성독성 값은 *S. subspicatus*가 0.23 mg/l, *M. rectirostris*는 1.3 mg/l, *O. latipes* 0.58 mg/l으로서 *S. subspicatus*에 대해 butachlor가 가장 높은 독성을 나타내었다.

2) 살충제 trichlorfon과 BPMC의 96시간 및 48시간의 급성독성 값은 *S. subspicatus*에 대해 290 mg/l와 56 mg/l이상이었고, *M. rectirostris*에 대해서는 0.0011 mg/l와 0.011 mg/l, 그리고 *O. latipes*에 대해서는 70 mg/l와 11mg/l였다. 따라서 각각류인 *M. rectirostris*가 이들 농약에 대한 감수성이 가장 높았다.

3) 급성독성값의 비율로 농약별 실험종간 민감도를 비교해 보면 제초제 butachlor에는 *S. subspicatus*가 가장 민감한 실험종이며, 살충제 trichlorfon, BPMC에 대해서는 *M. rectirostris*가 가장 민감한 실험종임이 판명되어 차후 각종 화학물질의 급성독성 실험시에는 실험된 3종 모두를 이용한 실험방법이 요구된다.

참 고 문 헌

1. Connolly, J.P. (1985) : Predicting single-species toxicity in natural water systems, Environmental Toxicology Chemistry, 4 : 573-582.
2. Smith, L.L. Jr. (1978) : Endpoints in bioassay, In ; Proceedings of the 1st-2nd USA-USSR symposium on the effects of pollutants upon aquatic ecosystems, EPA 600/3-78-076.
3. EPA (1978) : Criteria and rationale for decision marking in aquatic hazard evaluation, Aquatic Hazards of Pesticides Task Group, American Inst. of Biological Science, Arlington, Virginia.

- 46pp.
4. EPA (1980) : Proposed guidelines for deriving water quality criteria for the protection of aquatic life and its uses, Fed. Register, 5 : 79-341.
 5. EC (1984) : Official J. of the European Communities. No. L 251/146.
 6. OECD (1979) : Report on the assessment of potential environmental effects of chemicals; the effects on organisms other than man and on ecosystems, Chemical Group Chemicals Testing Programme, Vol. 1, Organization for Economic Cooperation and Development, 28pp.
 7. OECD(1982) : Final report of the working party on natural environment effects of the OECD, Hazard Assessment Project, February 2, 29pp.
 8. EPA (1983) : Protocol for bioassessment of hazardous waste site, EPA-600/2-83-054.
 9. Adema, D.M.M., J. Kupier, A.O. Hanstveit and H.H. Canton(1983) : Consecutive system of tests for assessment of the effects of chemical agents in the aquatic environment, IUPAC Pesticide Chemistry-Human Welfare and the Environment (ed. J. MIYAMOTO). Pergamon Press.
 10. Lesnikov (1978) : A research system for developing fisheries standards for water quality, considering the peculiarities of transferring experimental data to natural water bodies, In Proceedings of the 1st 2nd USA-USSR symposium on the effect of of pollutants upon aquatic ecosystems, EPA/3-78-076.
 11. 농촌진흥청(1982) : 농약의 시험기준과 방법
농촌진흥청 고시 제21호
 12. Hashimoto, Y., E.Okubo, T, Ito, M. Yamaguchi and S. Tanaka (1982) : Changes in susceptibility of carp to several pesticides with growth, J. Pesticide Sci., 7 : 457-461.
 13. Yamamoto, I and J. Fukami (1979) : Pesticide Design. Soft Sci. Inc Tokyo, p, 1061-1062.
 14. Hartley, D, and H. Kidd(eds) (1983) : The agrochemicals handbook, The Royal Society of Chemistry, U.K.
 15. APHA-AWWA-WPCF (1981) : Standard method for the examination of water and wastewater (15th. ed.).
 16. Peltier, W.H. and C.I. Weber(eds) (1985) : Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms (3rd. ed), EPA 600/4-85-013.
 17. EPA (1978) : Methods for measuring the acute toxicity of effluent to aquatic organisms. EPA 600/4-78-012, July.
 18. 이은호, 노정구(1983) : 농약의 농작물 축적 및 어류의 독성연구, 한국과학기술원보고서, BS E 580 (1)-1886-5.
 19. 노정구, 이은호, 박철원, 이성규(1983) : 벼생육기간 중 농약이 논외의 periphyton community에 미치는 영향, 한국환경 농학회지, 2 : 108-113.
 20. 한국과학기술원(1983) : 화학물질의 안전성및 생리활성에 관한 연구, 과학기술처, 185pp.
 21. 이성규, 김용화, 노정구 (1986) : 오리나무 잎벌레 (*Agelastica coerulea* B.) 방제용 살충제 Trichlorfon (Dipterex)의 환경 동태, 한국환경 농학회지, Vol. 5. (인쇄중)
 22. Johnson, W.W. and M.T. Finley(1980) : Handook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates, US Department of the Interior, Fish and wildlife service, Resource publication 137.
 23. OECD (1981) : OECD guideline for testing of chemicals, Paris.