

## Carbosulfan과 Phenthoate의 송사리(*Oryzias latipes*, Medaka)에 대한 독성시험

배철한\* · 이정석 · 조경원 · 박현주 · 조동훈 · 신관섭 · 정창국 · 박연기<sup>1</sup>

한국삼공(주) 농업연구소, <sup>1</sup>농업과학기술원 농약평가과

**요약** : 우리나라에서 널리 사용되고 있는 벼재배용 살충제인 carbosulfan과 phenthoate의 담수어에 미치는 급·만성적 영향을 알아보기로 송사리(*Oryzias latipes*, Medaka)에 대한 급성독성시험(Acute Toxicity Test)과 생육초기 독성시험(Early-life Stage Toxicity Test)을 실시하였다. 급성독성시험 결과 carbosulfan과 phenthoate의 송사리에 대한 96시간 LC<sub>50</sub>은 0.102, 0.167 mg/L로 비슷한 감수성을 보였다. 생육초기 독성시험 결과 carbosulfan의 경우 부화율은 80%이상, 부화기간은 9~10일로 나타나 처리구간 유의성이 없었다. 처리농도 0.042 mg/L이상에서는 부화후 생존율이 통계적으로 유의한(p<0.05) 차이를 보였으며, 척추가 휘어지는 형태적으로 비정상적인 결과가 관찰되었다. 시험 종료후 생존한 송사리의 전장 및 체중 변화는 농도 상관성을 보였으며, 특히 0.017 mg/L이상에서는 대조구에 비해 유의한(p<0.05) 감소를 나타내었다. 따라서 이런 결과를 근거로 한 무영향농도(NOEC), 최저영향농도(LOEC), 그리고 최대허용농도(MATC)는 각각 0.0067, 0.017, 0.011 mg/L으로 산출하였다. phenthoate 처리구의 부화율과 부화기간은 처리 농도간 유의성이 없었으나, 부화후 생존율은 처리농도 0.076 mg/L 이상에서 유의한(p<0.05) 차이를 보였다. 또한 처리농도 0.076 mg/L 이상에서는 척추기형과 유영이상을 보이는 이상어가 나타났다. 그러나 시험 종료후 송사리 전장 및 체중의 변화는 통계적인 유의한 차이가 없었으며, 농도 상관성도 보이지 않았다. 따라서 이런 결과를 종합하여 NOEC, LOEC, 그리고 MATC는 각각 0.011, 0.029, 0.018 mg/L으로 결정되었다.(2004년 11월 10일 접수, 2004년 12월 20일 수리)

### 서 론

농약은 병해충 및 잡초로부터 농작물을 보호하여 농업 생산물의 양적 증대와 함께 품질을 향상시키는 중요한 농업자재로서 현대농업에서 농약사용은 필수적이다. 그러나 최근 환경보존에 대한 국민의 관심이 고조되면서 농약에 대한 환경위해성 평가문제가 부각되고 있다. 이에 국내에서는 농약 등록시 농약의 수서생물에 대한 독성영향을 평가하기 위해 제출해야할 독성시험성적서 및 생물별 독성시험 기준과 방법을 고시하고 있으며(농진청, 2004), 농약의 수서생물에 대한 위해성 평가(Risk Assessment)는 어류에 대한 급성독성시험의 결과와 최악의 노출경우를 가정하여 계산한 환경추정농도(Predicted Effects Concentration)를 비교하여 평가하고 있다. 그러나 미국과 유럽 등 선진국에서는 어류에 대한 독성평가방법의 기초단계인 급성독성시험에서 벗어나 만성독성시험인 어류 생육초

기독성시험(Fish Early-Life Stage Toxicity Test)이나 어류 전생활사시험(Fish Full Life Cycle Toxicity Test)을 적용시켜 위해성 평가를 위해 체계적으로 과학적이고 현실적인 폭넓은 자료를 축적하고 있다.

우리나라 농약사용량의 상당한 부분이 논·밭의 병해충과 잡초 방제에 사용되고 있기 때문에 이들 농약의 일부가 수계를 통해 하천이나 호수로 유출되는 비율이 높아, 신 등(1988)의 보고처럼 일부 농약의 경우 독성발현이 7일후까지 지속적으로 나타나거나, Wolfe 등(1995)의 보고와 같이 어류 발생 단계중 독성물질에 감수성이 가장 큰 생육초기에 노출된다면 어류에 대한 피해가 전혀 없다고 말할 수 없다. 또한 이(1988)는 국내 사용량이 많은 유기인계와 카바메이트계 농약은 잔류기간은 비교적 짧지만 저농도에서 기형어를 발생시키므로 저농도 장기간 노출로 인한 어류에 있어서의 생리, 생화학적 및 형태적 영향을 관찰하여 농약의 어류에 대한 영향을 적정하게 평가할 필요가 있다고 하였다.

\*연락저자

이에 본 시험은 사육 및 관리가 쉽고 계대사육이 가능하여 국내 및 미국 EPA와 OECD 등에서 독성시험의 표준시험종으로 추천한 송사리(*Oryzias latipes*, Medaka)를 이용하여 카바메이트계 침투성 살충제로 벼물바구미, 벼멸구, 이화명나방, 벼잎벌레 등 해충방제에 사용하는 carbosulfan과 비침투성 유기인계 살충제로 이화명나방, 흰등멸구, 멸강나방, 애잎굴파리, 벼잎벌레의 해충방제에 사용하는 phenthoate에 대하여 급성 및 만성적 영향을 알아보고자 96시간 급성독성과 30일간 생육초기 독성시험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 시험물질

벼 재배용 살충제로 널리 사용되는 카바메이트계 살충제인 carbosulfan(원제 85%)과 유기인계 살충제인 phenthoate(원제 91%)은 한국삼공(주) 농업연구소 잔류연구실에서 분양받았고, 대조물질로 사용되는 pentachlorophenol sodium salt(90%)는 Aldrich Chemical에서 구입하여 사용하였다.

### 시험생물

급성독성시험에는 본 연구소에서 계대사육중인 송사리(*Oryzias latipes*, Medaka)중 6개월 이상된 건강한 성어를 이용하였고 생육초기 독성시험은 송사리 성어 암수(♀6:♂4) 10마리를 수조에 넣어 산란 유도하여 채란후 배반(blastodisc)의 분열이 시작되기 전의 수정란을 사용하였다.

### 어류 급성독성시험(Acute toxicity test)

급성독성시험은 국내농약의 등록시험 기준과 방법(농촌진흥청고시 제2004-1호)과 미국 및 유럽의 표준 독성시험법(EPA, ASTM, OECD 등)에 준하여 시험하였다. 노출방식은 96시간 동안 지수식(static)으로, 수조당 송사리를 10마리씩 반복없이 노출시켰다. 시험기간 중에는 먹이를 공급하지 않았고, 치사여부는 매 24시간마다 기록하였다. 시험결과 분석은 EPA probit analysis program(version 1.5)으로 48시간과 96시간 반수치사농도(LC<sub>50</sub>)와 95% 신뢰구간을 산출하였다.

### 어류 생육초기 독성시험(Early-life stage toxicity test)

어류 생육초기 독성시험은 국내 농약의 등록시험 기준과 방법(농촌진흥청고시 제2004-1호)과 미국 및 유럽의 표준 독성시험법(EPA, ASTM, OECD 등)에 준하여 시험하였다. 시험농도는 carbosulfan은 0.0011~0.042 mg/L, phenthoate는 0.0017~0.076 mg/L, 그리고 PCP-Na는 0.0028~0.198 mg/L 범위내에서 5단계로 설정하였으며, 각 농도당 수정란 60개(20개씩 3반복)를 처리하였다. 용매처리구와 음성대조구를 두었으며, 각 시험약제의 96시간 LC<sub>50</sub>에 해당되는 농도를 추가 하여 고농도에 대한 영향도 조사하였다. 시험수조는 부화전에는 100 ml 유리수조를 사용하였으며, 부화후에는 2 L 유리수조에 옮겨 시험을 계속 진행하였다. 노출방식은 반지수식(semi-static)으로 하였으며, 초기농도의 80%이상의 시험농도를 유지시키기 위하여 48시간마다 시험수를 교체하였다. 시험 기간동안 수온은 수정란은 24±1℃, 자어 및 치어는 23±2℃로 일정하게 유지시켰다. 먹이는 부화후 3일부터 Tetramin 분말을 공급하였고 7일 이후에는 부화된 Brine shrimp를 1일 2회 급이하였다. 시험기간은 수정란에서 시작하여 완전히 부화한 후 30일이 경과할 때까지 계속하였다. 시험기간 동안 매일 수정란과 치어의 발달단계, 치사어, 이상어 발생을 관찰 기록하였고 시험 종료후 체중과 전장을 측정하였으며, 7일마다 수온과 pH, DO를 측정하였다. 시험에 의한 모든 결과값의 통계처리는 Microsoft(R) Excel 2002를 사용하였으며, 분산분석(ANOVA, analysis of variance) 검정법으로 p<0.05 수준에서 유의성을 검증한 후 최저영향농도(LOEC)과 최대무영향농도(NOEC), 그리고 NOEC와 LOEC의 기하평균인 최대허용농도(MATC)를 결정하였다.

### 시험수 중 시험물질의 농도 분석

반지수식 시험법에서는 시험물질의 농도를 유지시키기 위해 일정한 시간 간격으로 시험용액의 교체가 필요하다. 본 시험에서는 시험 시작전에 시험조건과 동일한 조건하에서 약제처리 후 24시간과 48시간에 시험물질의 농도를 분석하였다.

Carbosulfan은 시험용액 100 ml을 1 L 분액여두에 옮긴 후 포화식염수 30 ml와 증류수 100 ml, dichloromethane 50 ml로 분배하여 dichloromethane층을 anhydrous sodium sulfate층에 통과시켜 수분을 제거한 후 35℃ 이하에서 감압 농축 후 acetone 5 ml로 정용하여 GC/NPD로 분석하였고 phenthoate는 시험용액

100 ml을 1 L 분액여두에 옮긴 후 포화식염수 20 ml와 증류수 100 ml를 가한 후 n-hexane 100 ml와 50 ml로 2회에 걸쳐 분배하였다. 층 분리 후 n-hexane층을 anhydrous sodium sulfate층에 통과시켜 수분을 제거한 후 35°C 이하에서 감압 농축하여 n-hexane 5 ml로 재용해하여 GC/FPD로 분석하였다. 또한 PCP-Na은 시험용액 100 ml을 1 L 분액여두에 옮긴 후 포화식염수 20 ml와 증류수 100 ml를 가한 후 dichloromethane 100 ml와 50 ml로 2회에 걸쳐 분배하였다. 층 분리 후 dichloromethane층을 anhydrous sodium sulfate층에 통과시켜 수분을 제거한 후 35°C 이하에서 감압 농축하여 methanol 5 ml로 재용해하여 HPLC/UVD로 분석하였고 기기분석 조건은 표 1과 같다.

Table 1. Operating conditions of instruments for analysis of pesticides

#### Carbosulfan

Instrument : HP 5890series Gas Chromatograph,  
Hewlett packard, USA  
Detector : NPD  
Column : SPB™-5(Fused silica capillary),  
30m×0.25mm, 0.25 $\mu$ m  
Temperature : Oven 210°C, Injector 250°C, Detector  
270°C  
Flow rate : Carrier(N<sub>2</sub>) 3ml/min  
Injection volume : 2 $\mu$ l  
Retention time : 4.3min

#### Phenthoate

Instrument : HP 5890series Gas Chromatograph,  
Hewlett packard, USA  
Detector : FPD  
Column : HP-1(0.53mm×10mm) cross linked column  
Temperature : Oven 200°C, Injector 210°C, Detector  
250°C  
Flow rate : Carrier(N<sub>2</sub>) 4.0ml/min  
Injection volume : 1 $\mu$ l  
Retention time : 6.9min

#### PCP-Na

Instrument : High performance liquid chromatograph  
Detector : Waters 486, UVD  
Column :  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub>(3.9×300mm)  
Mobile phase : methanol:water = 60:40(v/v)  
Wave length : 254nm  
Flow rate : 1ml/min  
Injection volume : 20 $\mu$ l  
Retention time : 5.7min

#### 시험수 교체

시험기간중 시험물질의 농도를 최초농도의 80% 이상으로 유지시키기 위해 농약별 수중 농도를 분석한 결과, 48시간 후 수중 농도는 carbosulfan 93%, phenthoate 112%, PCP-Na 96%로 분석되었다. 따라서 수중 농도 분석결과를 바탕으로 시험용액의 pH 변화와 용존산소(dissolved oxygen)의 감소를 고려하여 시험용액 교체주기를 48시간으로 결정하였고 시험용액의 전부를 교체하였다.

#### pH, DO, 온도변화

시험기간중 7일마다 pH, DO, 그리고 온도변화를 조사하였으며, pH는 6.5~7.5, DO는 7.5~8.5 mg/L, 수온은 24~25°C로 유지하였다.

## 결과 및 고찰

#### 어류 급성독성시험

Carbosulfan, phenthoate, 그리고 PCP-Na의 송사리에 대한 96시간 급성독성시험 결과, 반수치사농도(LC<sub>50</sub>) 값이 각각 0.102, 0.167, 그리고 0.299 mg/L로 나타났으며, Hirose 등(1977)과 Hori 등(1966)의 시험결과와 유사하였다(표 2).

#### 어류 생육초기 독성시험

##### 부화기간, 부화율, 부화후 생존율

표 3, 4, 5에 약제별 조사 결과를 정리하였다. carbosulfan 처리구에서의 평균부화기간을 조사한 결과, 0.102 mg/L 처리구에서는 대조구에 비해 유의(p<0.05)하게 부화기간이 지연되었지만, 평균부화율은 76.7~91.7%로 유의차가 나타나지 않았다. 또한, 0.042 mg/L 이상 농도에서는 대조구에 비해 유의(p<0.05)하게 부화후 생존율이 감소되었다. Phenthoate 처리구의 평균 부화기간과 부화율은 각각 8.8~9.9일과 75~90%로 처리구간 유의차가 없었으나, 부화후 생존율이 0.029 mg/L 이상 농도에서는 대조구에 비해 유의(p<0.05)하게 감소함을 보였다. 대조물질인 PCP-Na 처리구는 0.289 mg/L 처리구에서 대조구에 비해 유의(p<0.05)하게 부화기간이 지연되었고, 0.068 mg/L 이상 농도에서는 부화율과 부화후 생존율이 대조구에 비해 유의(p<0.05)하게 낮게 나타났다. 약제 처리구와 대조구간 부화기간과 부화율의 유의차는 그림 1에서 보는

Table 2. Acute toxicity of test chemicals to *Oryzias latipes*

Test chemical	Test duration	LC <sub>50</sub> , mg/l	Reference
PCP-Na	48-h	<b>0.363</b> (0.285~0.463)*	0.42~0.65 <sup>a)</sup>
	96-h	<b>0.299</b> (0.237~0.383)	0.23~0.39 <sup>b)</sup>
Carbosulfan	48-h	<b>0.102</b> (0.073~0.143)	
	96-h	<b>0.102</b> (0.073~0.143)	
Phenthoate	48-h	<b>0.203</b> (0.150~0.289)	0.17 <sup>c)</sup>
	96-h	<b>0.167</b> (0.117~0.226)	

a), b) Hori et al., 1996, c) Hirose and Kawakami, 1977.

\* 95% confidence limit

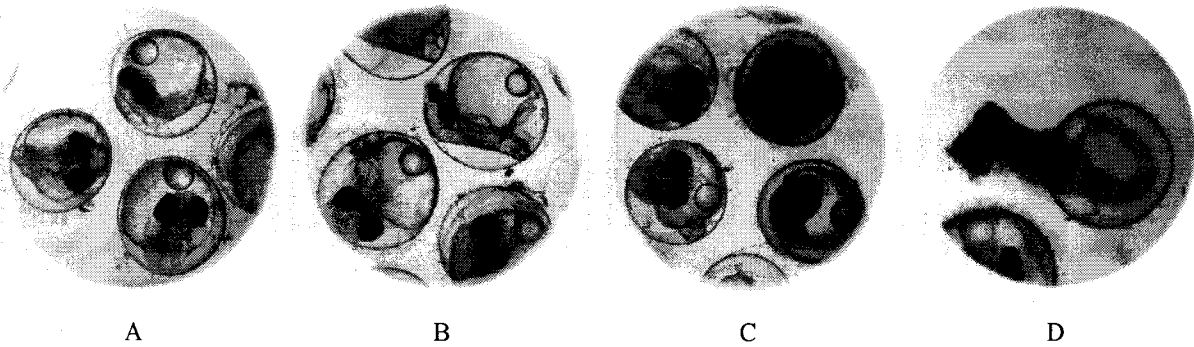


Fig. 1. Effects of test chemicals on embryos. A : control, B : reduced eyeball, C : dead, D : half-hatched(dead).

바와 같이 수정란에서 부화되기 전의 배아(embryo) 단계에서 맥박수 감소와 혈류 정지, 안구 축소 현상 등의 영향으로 부화가 지연되거나 치사로 인한 영향으로 생각된다. 부화후 생존율 경향을 알아보기 위하여 치사율을 조사한 결과, 그림 2~4에서 보는 바와 같이 부화 후 3일에서 10이내 전체 치사의 90%를 보였는데, 이것은 신 등(1987)의 생육단계별 송사리의 치사율과 통계적으로 유의성이 인정되고, 그중 가장

민감한 생육단계는 부화 후 1주일이 경과된 치어시기임을 보고한 것과 일치하였다.

**전장과 체중**

시험 종료 후 시험구별 생존한 송사리의 전장과 체중을 측정된 결과를 표 6, 7, 8에 정리하였다. carbosulfan 0.017 mg/L 이상의 농도에서 전장 및 체중은 대조구에 비해 유의한(p<0.05) 감소를 보였으나,

Table 3. Effects of carbosulfan on hatching rate, post-hatching survival and hatching-period of *Oryzias latipes*

(Mean±SD)

Concentration(mg/L)	Hatching-period(day)	Hatching rate(%)	Post-hatching Survival(%)
0.0011	10.1±0.4	91.7±5.8	83.4±6.5
0.0027	10.0±0.5	83.3±7.6	89.9±3.8
0.0067	9.8±0.9	88.3±11.6	78.8±5.4
0.017	9.8±0.2	76.7±7.6	76.0±14.0
0.042	10.1±0.6	78.3±7.6	35.8±17.1 <sup>a)</sup>
0.102 <sup>b)</sup>	11.0±0.5*	81.7±10.4	0 <sup>a)</sup>
solvent control	9.9±0.2	81.7±2.9	81.7±5.5
control	9.8±0.3	83.3±7.6	81.9±1.7

<sup>a)</sup>Significantly different from the control at p<0.05.

<sup>b)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.

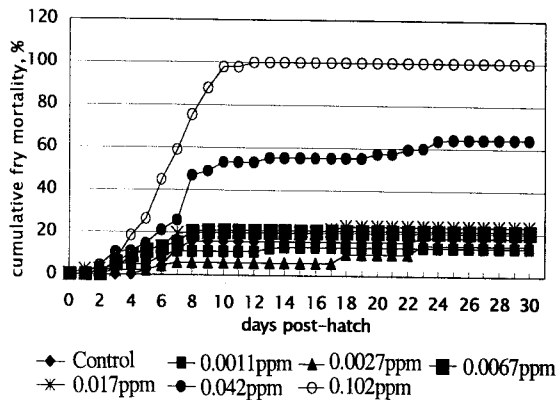


Fig. 2. Cumulative mortality curve for *Oryzias latipes* exposed for 30days to carbosulfan

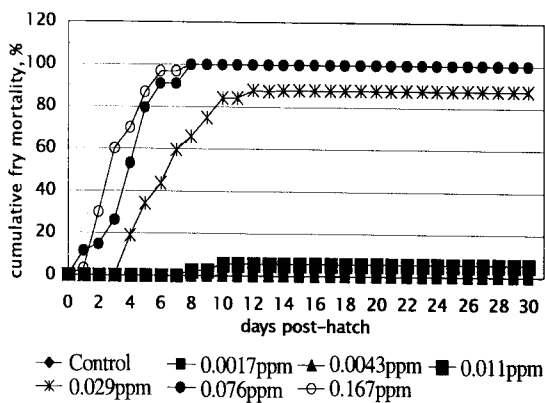


Fig. 3. Cumulative mortality curve for *Oryzias latipes* exposed for 30days to phenthoate

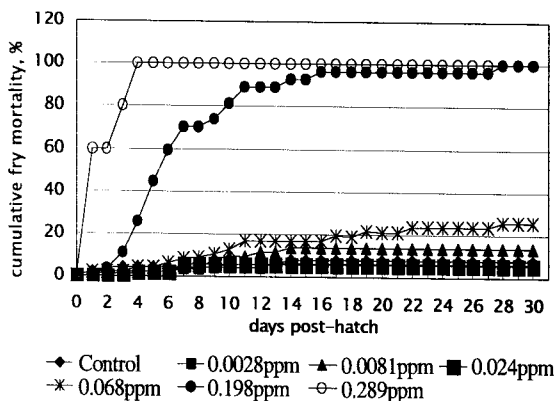


Fig. 4. Cumulative mortality curve for *Oryzias latipes* exposed for 30days to PCP-Na

phenthoate 처리구에서는 통계적인 유의차가 없었다. 또한, PCP-Na 0.068 mg/L에서 대조구에 비해 유의한 ( $p < 0.05$ ) 전장과 체중의 감소를 나타내었다.

### 이상어 발생

시험기간중 육안으로 관찰된 이상어의 형태적 특성은 그림 5에서 보는 바와 같이 척추기형과 난황흡수가 지연되는 비정상적인 생육상태를 보였다. 표 9, 10, 11에서 보는 바와 같이 carbosulfan의 경우 0.042 mg/L에서 척추기형 6.1%, 운동성 저하나 유영이상을 보인 개체가 14.8%로 조사되었고, 0.102 mg/L에서는 부화된 90.1%에서 척추기형을 나타내었다. 또한 phenthoate 처리구에서도 0.076 mg/L이상의 농도에서 척추 기형과 유영이상이 관찰되었고, 0.029 mg/L에서는 유영이상만 나타났다. PCP-Na 0.198 mg/L에서는 운동성 저하로 바닥에 머물러 있거나, 비정상적인 유영을 하는 개체가 발견되었으나, 형태적인 기형은 관찰되지 않았다.

### NOEC, LOEC, MATC의 결정

생육초기 독성시험에서의 endpoint는 부화율, 부화 기간, 부화 후 생존율, 체장과 체중의 변화, 이상어 발생률이며, 시험 종료후 각 endpoint에 대한 측정값을 95% 유의수준( $p < 0.05$ )으로 통계처리하여 NOEC, LOEC, MATC를 구하였다. 표 12에서 보는 바와 같이 carbosulfan, phenthoate 그리고 PCP-Na의 NOEC는 0.0067, 0.011, 0.024 mg/L, LOEC는 0.017, 0.029, 0.068 mg/L, 그리고 MATC는 0.011, 0.018, 0.040 mg/L로 조사되었다. 이것은 Hashimoto와 Nishiuchi(1981)가 phenthoate에 대해 24일간 송사리를 이용하여 생육초기 독성시험한 결과의 NOEC값인 0.01 mg/L와 차이가 없었고, PCP-Na의 NOEC값은 송사리에 대한 시험 결과 자료가 없어서 직접 비교할 수 없으나, Matida 등 (1971)이 시험한 잉어 수정란을 사용한 70일간 시험 결과의 NOEC값 0.01 mg/L과 유사하였다.

생물종을 이용한 생태영향평가는 화합물 고유독성의 정도와 생물종에 노출되는 농약의 노출량을 개별적으로 검토하고 그 결과를 상호 비교함으로써 위해성을 평가하는 방법을 채택하고 있으나 비용과 시간을 고려하여 독성과 노출량에 관계되는 시험 등을 단계적으로 수행하여 평가하고 있다. 최초 평가단계에서는 급성독성시험의 결과로 급성독성치(LC<sub>50</sub>)와 최악의 경우를 가정하여 계산한 환경추정농도를 비교 평가하여, 위해성이 인정되면 다음단계인 만성독성시험의 결과를 바탕으로 무영향농도(NOEC)와 간편한 모델계산에 의한 환경중 예측농도를 비교하고 평가한

Table 4. Effects of phenthoate on hatching rate, post-hatching survival and hatching-period of *Oryzias latipes*

(Mean±SD)

Concentration(mg/L)	Hatching-period(day)	Hatching rate(%)	Post-hatching survival(%)
0.0017	9.9±0.5	88.3±2.9	100
0.0043	9.3±0.4	86.7±2.9	100
0.011	9.2±0.6	90.0±5.0	86.5±10.7
0.029	9.5±0.3	81.7±2.9	15.6±22.1 <sup>a)</sup>
0.076	9.5±0.5	86.7±2.9	0 <sup>a)</sup>
0.167 <sup>b)</sup>	8.8±0.2	75.0±5.0	0 <sup>a)</sup>
solvent control	8.8±0.2	83.3±7.6	100
control	9.5±0.5	83.3±5.8	100

<sup>a)</sup>Significantly different from the control at p<0.05.<sup>b)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.Table 5. Effects of PCP-Na on hatching rate, post-hatching survival and hatching-period of *Oryzias latipes*

(Mean±SD)

Concentration(mg/L)	Period of hatching(day)	Hatching success(%)	Post-hatching survival(%)
0.0028	9.1±0.2	80.0±5.0	93.9±6.3
0.0081	9.1±0.3	86.7±2.9	86.5±3.6
0.024	8.9±0.2	85.0±8.7	94.4±5.6
0.068	9.0±0.4	76.7±2.9*	76.9±5.4 <sup>a)</sup>
0.198	9.5±0.2	45.0±13.2*	0 <sup>a)</sup>
0.289 <sup>b)</sup>	10.7±0.5*	8.3±10.4*	0 <sup>a)</sup>
control	9.1±0.5	86.7±2.9	90.1±0.5

<sup>a)</sup>Significantly different from the control at p<0.05.<sup>b)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.

다. McKim(1995)에 의하면 이러한 만성독성시험인 생육초기단계 시험은 전생활사에 걸친 시험을 하지 않고도 MATC의 예측이 가능하며, 전생활사 시험과 같이 많은 비용과 수개월의 시험기간을 요구하지 않기 때문에 경제적인 시험법으로 많이 이용되고 있다. 국

내에서도 농약의 어독성 평가방법의 기초단계인 급성독성시험에서 벗어나 만성독성시험법을 적용시켜 농약의 환경안전성에 대한 현실적이고 폭넓은 자료를 축적해야할 필요가 있다고 사료된다.

Table 6. Effects of carbosulfan on total length and body-weight changes of *Oryzias latipes* after 30 days-exposure

(Mean±SD)

Concentration(mg/L)	Total length (mm)	Body weight (mg)
0.0011	14.1±2.7	25.2±8.2
0.0027	13.3±1.8	21.2±8.3
0.0067	13.0±1.9	23.2±6.3
0.017	12.0±1.6*	19.2±8.0 <sup>a)</sup>
0.042	9.9±1.6*	10.9±4.9 <sup>a)</sup>
0.102 <sup>b)</sup>	-	-
solvent control	14.0±2.2	24.3±7.4
control	13.8±2.4	23.3±9.2

<sup>a)</sup>Significantly different from the control at p<0.05.<sup>b)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.

Table 7. Effects of phenthoate on total length and body-weight changes of *Oryzias latipes* after 30 days-exposure

Concentration (mg/L)	(Mean±SD)	
	Total length (mm)	Body weight (mg)
0.0017	13.9±2.1	23.3±8.9
0.0043	14.6±1.8	25.4±7.9
0.011	14.7±2.0	26.4±9.5
0.029	14.2±2.9	28.8±19.2
0.076	-	-
0.167 <sup>a)</sup>	-	-
solvent control	14.4±1.8	26.4±8.9
control	14.8±2.3	27.1±10.0

<sup>a)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.Table 8. Effects of PCP-Na on total length and body-weight changes of *Oryzias latipes* after 30 days-exposure

Concentration (mg/L)	(Mean±SD)	
	Total length (mm)	Body weight (mg)
0.0028	14.3±2.7	24.9±9.3
0.0081	15.1±2.1	28.8±8.1
0.024	14.3±2.0	25.3±7.3
0.068	13.3±2.8 <sup>a)</sup>	21.3±9.6 <sup>a)</sup>
0.198	-	-
0.289 <sup>b)</sup>	-	-
control	14.6±1.9	26.0±6.3

<sup>a)</sup>Significantly different from the control at p<0.05. <sup>b)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.Table 9. Abnormal fish ratio of *Oryzias latipes* exposed to carbosulfan

Concentration (mg/L)	(Mean±SD)	
	Abnormal fish ratio (%)	
	deformed larvae	fish exhibiting abnormal behaviour
0.0011	0	0
0.0027	0	0
0.0067	0	0
0.017	0	0
0.042	6.1±0.3 <sup>a)</sup>	14.8±2.6 <sup>a)</sup>
0.102 <sup>b)</sup>	90.1±5.9 <sup>a)</sup>	9.9±5.9 <sup>a)</sup>
solvent control	0	0
control	0	0

<sup>a)</sup>Significantly different from the control at p<0.05. <sup>b)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.Table 10. Abnormal fish ratio of *Oryzias latipes* exposed to phenthoate

Concentration (mg/L)	(Mean±SD)	
	Abnormal fish ratio, %	
	deformed larvae	fish exhibiting abnormal behaviour
0.0017	0	0
0.0043	0	0
0.011	0	0
0.029	0	12.5±8.8 <sup>a)</sup>
0.076	29.4±8.3 <sup>a)</sup>	55.9±12.5 <sup>a)</sup>
0.167 <sup>b)</sup>	60.7±15.2 <sup>a)</sup>	0
solvent control	0	0
control	0	0

<sup>a)</sup>Significantly different from the control at p<0.05. <sup>b)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.

Table 11. Abnormal fish ratio of *Oryzias latipes* exposed to PCP-Na (Mean±SD)

Concentration (mg/L)	Abnormal fish ratio (%)	
	deformed larvae	No. of fish exhibiting abnormal behaviour
0.0028	0	0
0.0081	0	0
0.024	0	0
0.068	0	0
0.198	0	12.3±9.7*
0.289 <sup>a)</sup>	0	0
control	0	0

\* Significantly different from the control at p<0.05. <sup>a)</sup>96h-LC<sub>50</sub>.

Table 12. Early-life toxicity of pesticides on *Oryzias latipes*

Test Substance	NOEC (mg/L)	LOEC (mg/L)	MATC (mg/L)
PCP-Na	0.024	0.068	0.040
Carbosulfan	0.0067	0.017	0.011
Phenthoate	0.011	0.029	0.018

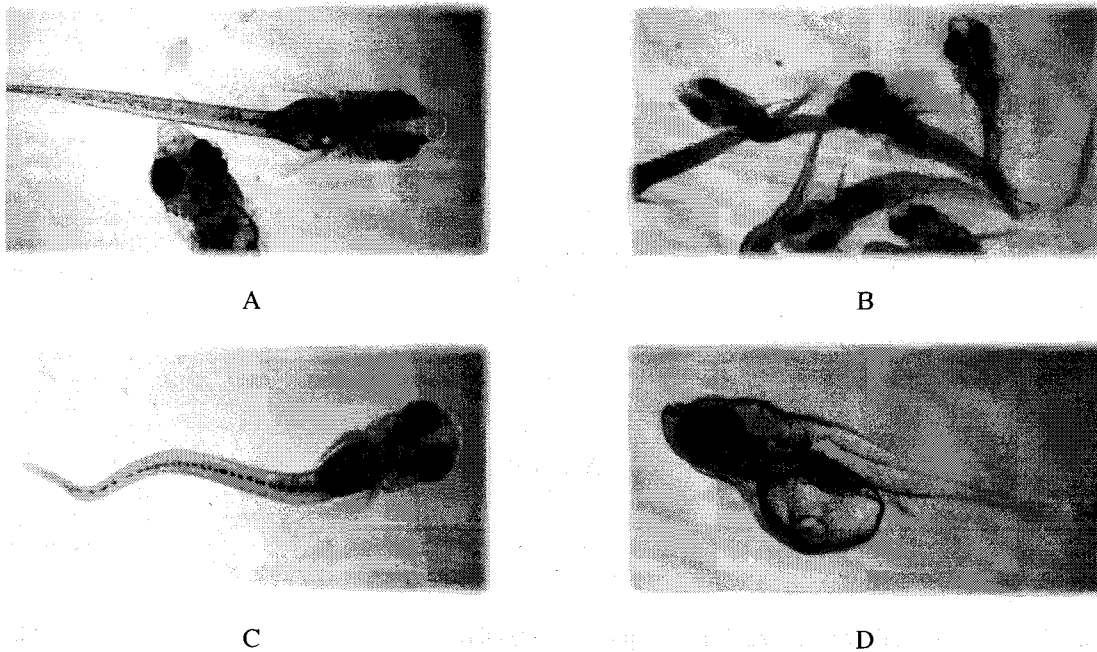


Fig. 5. Effects of test chemicals on Larvae. A : control, B C: abnormal vertebral axis, D : craniofacial alteration & retarded yolk-sac resorption

**인용문헌**

American Society for Testing and Materials(ASTM) (1996) Standard Guide for Conducting Acute Toxicity Tests on Test Materials with Fishes, Macroinvertebrates, and Amphibians, E729-96.

American Society for Testing and Materials(ASTM) (1998) Standard Guide for Conducting Early Life-Stage Toxicity Tests with Fishes, E1241-98.

Hashimoto, Y., and Y. Nishiuchi (1981) Establishment of Bioassay Methods for the Evaluation of Acute Toxicity of Pesticides to Aquatic Organisms, J. Pestic. Sci. 6(2):257~264 (Jpn) (Eng Abs).

Hirose, K., and K. Kawakami (1977) Effects of



- Insecticides, Oil Dispersants and Synthetic Detergent on the Embryonic Development in Medaka, *Oryzias latipes*, Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.(Tokai-ku Suisan Kenkyusho Kenkyu Hokoku) 91:9~17 (JPN) (ENG ABS).
- Hori, H., M. Tateishi, K. Takayanagi, and H. Yamada (1996) Applicability of Artificial Seawater as a Rearing Seawater for Toxicity Tests of Hazardous Chemicals by Marine Fish Species, Nippon Suisan Gakkaishi /Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. (4):614~622 (JPN) (ENG ABS).
- Matida, Y., S. Kimura, M. Yokote, H. Kumada, and H. Tanaka (1971) Study on the Toxicity of Agricultural Control Chemicals in Relation to Freshwater Fisheries Management No. 5. Some Effects of Sodium Pentachlorophena, Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. (Tokyo) 20(2):127~146.
- McKim, J.M. (1995) Appendix B Early Life Stage Tests. in : Fundamentals of Aquatic Toxicology, edited by Gary M Rand, ph.D., pp.974~1009.
- Nishiuchi, Y., and Y. Hashimoto (1967) Toxicity of Pesticide Ingredients to Some Fresh Water Organisms, Sci.Pest Control /Botyu-Kagaku 32(1):5~11 (JPN) (ENG ABS) (Author Communication Used).
- OECD (1992) Guideline for Testing of Chemicals No. 203. Fish, Acute Toxicity Test.
- OECD (1992) Guideline for Testing of Chemicals No. 210. Fish, Early-Life Stage Toxicity Test.
- U.S.EPA (1996) Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1075 Fish acute toxicity test, freshwater and marine.
- U.S.EPA (1996) Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1400 Fish Early-Life Stage Toxicity Test.
- Wolfe M. F., S. A. Villaobos, J. N. Seiber and D.E. Hinton(1995) A Comparison of carbamate toxicity to Medaka(*Oryzias latipes*) embryos larvae, Marine Environmental Research Vol. 39:380.
- 농촌진흥청 (2004) 농촌진흥청고시 제 2004-1호, 농약의 등록 시험기준과 방법.
- 신천철, 이성규, 김영배, 김용화, 노정구 (1987) 농약에 대한 송사리의 생육단계별 감수성의 변화, Korean J. Environ. Agric. Vol. 6(1) 50~60.
- 신천철, 이성규, 노정구 (1988) 농약의 노출시간에 따른 급성어독성의 변화, Korean J. Environ. Agric. Vol. 7(2):124~129.
- 이서래 (1988) 환경독성학의 새로운 과제, Korean J. Environ. Agric. Vol. 7(1):65~73.

---

**Toxicity Test of Carbosulfan and Phenthoate on Killifish**

Chul-Han Bae\*, Jeong-Seok Lee, Kyung-Won Cho, Hyun-Ju Park, Dong-Hun Cho, Kwan-Seop Shin, Chang-Kook Jung, Yeon-Ki Park<sup>1</sup>(Agricultural Research Center, Hankooksamgong Co., Ltd., <sup>1</sup>Pesticide Safety Division, National Institute of Agricultural Science and Technology)

**Abstract :** Acute toxicity test and chronic toxicity test were conducted with killifish (*Oryzias latipes*, Medaka) to evaluate toxicity effect of pesticides. Acute toxicity test was investigated mortality in 48 hours and 96 hours after treatment, chronic toxicity test was examined with the early life stage of 30 days after hatching be started embryos of Medaka. The test substances were two pesticides, Carbosulfan and Phenthoate, applied to the paddy rice plant and well-known to the high fish toxicity. As the result of acute toxicity test, median concentration (LC<sub>50</sub>) at 96 hours in Medaka was Carbosulfan 0.102 mg/L and Phenthoate 0.167 mg/L, and Fish early life stage toxicity test was conducted on basis of the result of acute toxicity test and concluded from the investigation of hatching success, period of hatching, survival post hatching, length and weight of surviving fishes and abnormal fish. The results of early life stage toxicity test were represented by no observed effect concentration (NOEC), lowest observed effect concentration (LOEC) and maximum acceptable toxicant concentration (MATC). NOEC was Carbosulfan 0.0067ppm and Phenthoate 0.011ppm, LOEC of PCP-Na, Carbosulfan and Phenthoate were 0.017ppm and 0.029ppm, MATC of Carbosulfan and Phenthoate were 0.011ppm and 0.018ppm. These studies will be expected to supply more varied chronic toxicity effects at lower concentration than acute toxicity test. Therefore, evaluation data will be more realistic and the risk assessment of pesticide will be leveled up.

**Key word :** *Oryzias latipes*, Acute Toxicity Test, Early-life Stage Toxicity Test, Carbosulfan, Phenthoate.

---

\*Corresponding author (Fax : +82-31-374-1720, E-mail : baech@30agro.co.kr)