

수종 살충제가 줄지렁이 치사에 미치는 영향평가

나영은 · 방혜선 · 강기경 · 한민수 · 안용준^{1)*}

농촌진흥청 농업과학기술원, ¹⁾서울대학교 농생명공학부
(2005년 8월 17일 접수, 2005년 9월 12일 수리)

Assessment of the Effects of Some Insecticides on Mortality of Earthworm (*Eisenia fetida*)

Na, Young Eun, Hae Son Bang, Kee Kyung Kang, Min Su Han, Young Joon Ahn^{1)*} (National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, ¹⁾School of Agricultural Biotechnology Seoul National University)

ABSTRACT: The toxic effects of 12 commercially available insecticides on the earthworm, *Eisenia fetida* (Savigny), were evaluated using artificial soil, surface sprayed soil, immersion, and contact filter tests. The risk to earthworm was assessed by the TER (toxic exposure ratio) value, which was calculated by the formula, $TER = NOEC/PEC$ (predicted environmental concentration). TER was 3 for methomyl SL, 20 for carbaryl WP, 20 for phosphamidon SL, 30 for imidacloprid WP, and 60 for dichlorvos EC the in artificial soil test. At recommended, the earthworm mortality to methomyl SL reached 50% in the surface sprayed soil test, 72% in the immersion test, 30% in the contact filter paper test, whereas that to imidacloprid WP reached 56, 32, and 100 respectively. As a result of the four methods, methomyl SL and imidacloprid WP would be toxic insecticides to earthworm.

Key Words: Earthworm, *Eisenia fetida*, insecticide, Toxicity, TER, NOEC, PEC

서 론

살충제는 해충으로부터 농작물을 보호하고 농업생산물의 양적 증대와 함께 품질을 향상시키고 농작업을 생력화하기 위하여 사용되는 현대농업에 있어서 없어서는 안될 중요한 농업자재이다. 앞으로도 인류가 농업을 통해 식량문제를 해결하는 한 살충제는 인류가 생존번영하기 위한 필수적인 자재로서 그 필요성이 지속될 것이다. 그러나 농약이 인류에게 가져다준 풍요로움과 유익성들과 함께 많은 부작용을 야기하고 있는 것도 부정할 수 없는 사실이다. 1939년 Müller 등이 DDT의 살충력을 발견한 이후 많은 유기합성 농약들이 뒤따라 개발되어 사용되었으며, 이들의 강한 독성으로 인해 인간은 물론 육상생물, 토양생물, 수서생물 등에 치명적인 결과를 초래하기도 하였다. 실제로 농업생산을 위하여 살포된 농약은 0.1% 이하만 목표로 하는 해충에 도달할 뿐, 99% 이상의 농약이 비표적 생물(non-target organisms)이나 주위의 환경에 들어가게 되고, 이로 인해 수계나 토양에 서식하는 생물

과 육상에 서식하는 여러 생물종에게 다양한 영향을 미치게 된다(Lee, 1995). 최근에는 일부 농약을 포함한 화학물질들 중에 환경에서의 잔류성이 길며 생체 내에 들어가면 분해 배설되지 않고 지속적으로 농축되거나 극히 낮은 농도에서 내분비계를 교란시켜 정상적인 교미나 번식활동을 방해하며 이러한 증상들이 다음 세대로 대물림한다는 연구결과들(Campbell과 Hutchinson, 1998; Zou와 Fingerman, 1999)이 발표되기 시작하면서 환경오염에 대한 관심이 날로 증폭되고 있다.

과거에는 화학물질의 등록과 관련된 생태독성분야의 주요 관심사는 주로 멸종위기생물을 포함한 비표적 생물종의 단일종(개체)에 대한 치사율에 한정되었으나 생태 위해영향평가 기술의 발달과 함께 야생동물, 토양생물, 수서생물, 식물, 유익곤충의 단일종과 개체군뿐만 아니라 이들의 군집과 생태계 수준까지 그 범위가 넓어지고 있다. 현재 수행하고 있는 구미 각국의 환경위해성 평가체계를 보면 생태계의 기본체계인 먹이사슬을 고려하여 최하위층의 생산자에서 최고층의 포식자에 이르기까지 각 지위의 대표적 생물에 대한 독성학적 영향을 평가하고 있다. 즉 먹이사슬 단계별로 대표종을 선정하고 그 대표종 이외의 다양한 생물종을 추가하고 생물이용도에

*연락처:

Tel: +82-2-880-4702 Fax: +82-2-873-2319

E-mail: yjahn@snu.ac.kr

대한 시험이나 모의 야외생태계 시험을 수행하여 실제적인 유해가능성을 평가하고 있다. 또한 우리나라도 병해충 및 잡초 방제뿐만 아니라 농약이 토양에 도달하여 토양생물에 미치는 위해성 평가에 대해서는 연구를 진행중에 있다. 토양생물 중에서 지렁이는 유기물 분해, 토양 비옥도 증가, 토양 물리성 개선, 먹이사슬 등 토양에 이로운 역할을 하는 대표적인 토양생물이라고 볼 수 있는데, 요즈음 농경지에서 발견하기가 어렵다.

따라서 이 연구는 현재 농경지에 사용 중인 12종의 살충제를 대상으로 인공토양법으로 줄지렁이에 미치는 위해성 평가를 실시하였고, 이를 농약이 실제 농경지에 뿌려지는 사용량을 기준으로 침지법, 표토처리법, 여지접촉법으로 줄지렁이의 치사율을 비교 평가하였다.

재료 및 방법

실험생물과 실험에 사용된 살충제 종류

이 실험에 사용된 지렁이는 줄지렁이(*Eisenia fetida*)이다. 이 종은 비닐하우스에서 사육하다가, 실험에 들어가기 2주 전에 줄지렁이를 채집하여 토양배지에 입식시켜 2주 동안 항온실(20±2℃)에서 적응시켰고 환대가 형성된 성체만을 선별하여 성체의 체중이 300~600 mg에 도달한 줄지렁이만을 시험에 사용하였다. 실험에 사용된 살충제는 현재 등록, 고시되어 농경지에서 실제로 사용중인 12종이며, 이들 농약들의 품목명과 유효성분, 계통은 Table 1에 제시하였다.

인공토양배지와 발토양배지의 조제

인공조제토양배지는 고운모래(Fine silica sand) 70%, 카오리나이트 점토(kaolinite clay) 20%, 피트모스(peat moss) 10%를 혼합하여 섞고, 증류수를 부어 토양수분 함량이 50%로 하여 pH가 6.0±0.5 범위가 되도록 하였다. 또한 작물을 재배하는 발토양(Sand 63%, Silt 18%, Clay 9%)에서 토양을 채취하여 2 mm 체로 선별한 후 발토양 90%에 피트모스 10%를 혼합하여 섞고, 증류수를 부어 토양수분 함량이 50%가 되게 만들었으며, pH는 탄산칼슘(CaCO₃)을 첨가하여 6.0±0.5 범위가 되도록 조절하여 발토양 조제배지를 만들었다.

인공토양법을 이용한 살충제의 위해성 평가

인공토양에 유기물과 pH를 조절하여 조제한 토양에 실험 농약이 1, 10, 100, 1000 mg/kg 되도록 처리한 후 500 g을 평량하여 1 l 유리 비이커에 넣었다. 그 다음 증류수 250 ml를 부어 토양에 스며들게 하도록 하였다. 줄지렁이는 농약과 토양이 혼합처리된 유리비이커 위에 놓고 비닐랩으로 밀봉한 후, 비닐랩 위에 2 mm의 구멍 50개를 뚫어 주었다. 실험구는 각 농도당 5반복으로 하였으며 20℃에서 14일간 유지시켰다. 14일 동안 광 조건은 낮과 밤(12:12 시간)을 구분하여 낮은 600±200 lux을 유지시켜 주었고, 밤은 어둡게 해주었다. 이후 줄지렁이를 손으로 토양에서 분리시키고 치사율을 조사하였다. 시험 종료 후 치사율을 조사하여 각 농약에 대한 무영향농도와 100%영향농도를 구하였다. 위의 농도범위에서 무영향농도와 100% 영향농도를 구하지 못한 농약은 다시 농도

Table 1. List of insecticides tested

| Insecticide formulation* | Active ingredient | Recommended rate | Class |
|--------------------------|---|------------------|-----------------|
| Carbaryl 50% WP | 1-Naphthyl methylcarbamate | 20g/20 l | Carbamate |
| Cypermethrin 5% EC | (RS)- α -cyano-3-Phenoxybenzyl(1RS)-cis-trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate | 20ml/20 l | Pyrethroid |
| Deltamethrin 1% EC | (S)- α -cyano-3-Phenoxybenzyl(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate | 13ml/20 l | Pyrethroid |
| Dichlorvos 50% EC | 2, 2-Dichlorovinyl dimethyl phosphate | 20ml/20 l | Organophosphate |
| EPN 45% EC | O-EthylO-4-nitrophenyl phenylphosphonothioate | 20ml/20 l | Organophosphate |
| Esfenvalerate 1.5% EC | (S)- α -cyano-3-Phenoxybenzyl(S)-2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyrate | 20ml/20 l | Pyrethroid |
| Fenitrothion 40% WP | O,O-Dimethyl-O-4-nitro-m-tolyl phosphorothioate | 20g/20 l | Organophosphate |
| Flucythrinate 3% EC | (RS)- α -cyano-3-Phenoxybenzyl(S)-2-(4-difluoromethoxyphenyl)-3-methylbutyrate | 20ml/20 l | Pyrethroid |
| Furathiocarb 10% WP | Butyl 2,3-Dihydro-2,2-dimethyl-benzofuran-7-yl N,N'-dimethyl-N,N'-thiodicarbamate | 20g/20 l | Carbamate |
| Imidacloprid 2% WP | 1-(6-Chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine | 20g/20 l | Neonicotinoid |
| Methomyl 24.1% SL | S-Methyl N-(methylcarbamoyloxy)thioacetimidate | 20ml/20 l | Carbamate |
| Phosphamidon 50% SL | 2-Chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate | 20ml/20 l | Organophosphate |

*EC, emulsifiable concentrate; WP, wettable powder; SL, soluble concentrate; and DP, dustable powder.

범위를 조정하여 재실험을 실시한후 줄지렁이가 한 마리도 죽지 않는 수준을 NOEC(no observed effect concentration)의 농도로 설정하였다. 그리고 우리나라에서 추천사용중인 약량에 따라 각 농약의 환경추정농도(predicted environmental concentration, PEC)를 계산하였다. 독성노출량비(toxicity exposure ratio, TER)는 NOEC를 PEC로 나누어 값을 산출하였다.

밭토양 배지를 이용한 농약의 추천사용량에 대한 영향평가

침지법(immersion test) : 농약 농도별(추천사용량과 추천사용량의 0.5, 2, 4배량)로 줄지렁이 10 마리를 30초 동안 침지했다가 농약이 처리되지 않은 깨끗한 인공조제토양에 옮겼다. 실험구는 각 농도당 5반복으로 하였으며, 20°C에서 7일간 유지시켰다. 7일 동안 광조건은 낮과 밤(12:12 시간)을 구분하여 낮은 600±200 lux을 유지시켜 주었고, 밤은 어둡게 해주었다. 이 후 줄지렁이를 손으로 토양에서 분리시키고 처리 7일 후에 치사율을 조사하였다. 각 처리구에 대한 유의성은 Scheffe's test로 검정하였다.

표토처리법(Surface sprayed soil test) : 1ℓ 유리비이커에 국내 밭토양(사양토)을 조제하여 750 g을 채우고, 줄지렁이 10마리를 이곳에 방사하여 7일 동안 서식케 한 후 표면에 농약을 살포하였다. 실험구는 각 농도당 5반복으로 하였으며 20°C에서 14일간 유지시켰다. 14일 동안 광 조건은 낮과 밤(12:12 시간)을 구분하여 낮은 600±200 lux을 유지시켜 주었고, 밤은 어둡게 해주었다. 이 후 줄지렁이를 손으로 토양에서 분리시키고 치사율을 조사하였다. 각 처리구에 대한 유의성은 Scheffe's test로 검정하였다.

여지 접촉법(Contact filter paper test) : 페트리디쉬(직

경 8.5cm)에 여지(Whatman No. 6 φ 110 mm)를 깔고 피펫으로 물에 용해한 각 농약 희석액 1 ml를 주입한 후 1마리의 줄지렁이를 넣고, 탈출을 방지하기 위하여 뚜껑을 덮었다. 각 농도(추천사용량과 추천사용량의 0.5배, 2배, 4배량)별로 대해 10반복으로 처리하였고 광이 없는 20°C 항온실에 옮기고 24시간 후에 치사율을 조사하였다. 줄지렁이의 치사유무는 바늘로 머리 부분을 자극하여 움직이면 살아있는 것으로 판단하였고, 3번 이상 자극하여도 움직이지 않으면 죽은 것으로 간주하였다.

결 과

인공토양법을 이용한 살충제의 위해성 평가

인공토양법을 사용하여 각 살충제의 무영향농도와 환경추정농도 및 독성노출비를 Table 2에 제시하였다.

독성노출량비(TER)가 100미만인 농약은 dichlorvos EC는 60, imidacloprid WP는 30, phosphamidon SL은 20, carbaryl WP는 20, methomyl SL은 3의 순으로 줄지렁이에 게 독성이 있는 것으로 평가된 반면 deltamethrin EC, EPN EC, furathiocarb WP, cypermethrin EC, flucythrinate EC, esfenvalerate EC 농약은 100이상으로 평가되어 줄지렁이에게는 영향이 없는 것으로 판단되었다.

밭토양 배지를 이용한 농약의 추천사용량에 대한 영향평가

침지법에 따라 12종의 살충제에 대한 줄지렁이의 치사율에 미치는 영향을 평가하기 위하여 추천사용량과 추천사용량의 0.5, 2, 4배량을 처리하여 줄지렁이 치사율을 조사하였다 (Table 3). 추천량의 0.5배 처리량에서 methomyl SL이

Table 2. Assessment of 12 of some insecticides to *E. fetida* using the artificial soil test method

| Insecticide | NOEC ^a (mg/kg dry soil) | PEC ^b (mg/kg dry soil) | TER ^c |
|-----------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------|
| Carbaryl 50% WP | 20 | 1.00 | 20 |
| Cypermethrin 5% EC | 20 | 0.05 | 400 |
| Deltamethrin 1% EC | 2 | 0.01 | 154 |
| Dichlorvos 50% EC | 60 | 1.00 | 60 |
| EPN 45% EC | 200 | 0.90 | 222 |
| Esfenvalerate 1.5% EC | 20 | 0.03 | 667 |
| Fenitrothion 40% WP | 200 | 0.80 | 250 |
| Flucythrinate 3% EC | 40 | 0.06 | 667 |
| Furathiocarb 10% WP | 40 | 0.20 | 200 |
| Imidacloprid 2% WP | 0.6 | 0.02 | 30 |
| Methomyl 24.1% SL | 1.5 | 0.48 | 3 |
| Phosphamidon 50% SL | 20 | 1.00 | 20 |

^a No observed effect concentration.

^b Predicted exposure concentration.

^c Toxicity exposure ratio, NOEC/PEC>100 no risk

54%의 치사율을 나타냈고, 추천량에서는 methomyl SL이 72%, imidacloprid WP이 56%의 줄지렁이 치사율을 나타냈다. 또한 추천량의 2배량 처리에서는 methomyl SL이 92%, imidacloprid WP이 100%의 치사율을 보였고, 추천량의 4배 처리에서는 methomyl SL이 100%, imidacloprid WP가 100%, flucythrinate EC는 62%, fenitrothion WP는 28%, phosphamidon SL가 20%의 치사율을 나타냈다.

표토처리법에 따라 12종의 살충제에 대한 줄지렁이의 치사율에 미치는 영향을 평가하기 위하여 추천사용량과 추천사용량의 0.5, 2, 4배량을 처리하여 줄지렁이 치사율을 조사하였다(Table 4). 추천량의 0.5배 처리량에서 methomyl SL이 34% 치사율이 나타났고, 추천량에서는 methomyl SL이 50%, imidacloprid WP이 32%의 줄지렁이 치사율을 나타냈다. 또한 추천량의 2배량 처리에서는 methomyl SL이 56%,

Table 3. 12 of some insecticides to *E. fetida* using the immersion test

| Insecticide | Mortality (mean±SE, %) ^a | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|---|------------------------|---|--------------|---|--------------|----|
| | 0.5-fold Appl. | | Recommended dose Appl. | | 2-fold Appl. | | 4-fold Appl. | |
| Carbaryl 50% WP | 0 | b | 12±6 | b | 8±4 | b | 16±7 | c |
| Cypermethrin 5% EC | 0 | b | 0 | b | 8±4 | b | 0 | c |
| Deltamethrin 1% EC | 0 | b | 4±2 | b | 0 | b | 4±2 | c |
| Dichlorvos 50% EC | 4±2 | b | 4±2 | b | 10±4 | b | 16±6 | c |
| EPN 45% EC | 0 | b | 0 | b | 0 | b | 6±2 | c |
| Esfenvalerate 1.5% EC | 0 | b | 0 | b | 0 | b | 4±2 | c |
| Fenitrothion 40% WP | 0 | b | 0 | b | 6±2 | b | 28±6 | bc |
| Flucythrinate 3% EC | 0 | b | 0 | b | 10±3 | b | 62±11 | b |
| Furathiocarb 10% WP | 0 | b | 0 | b | 12±4 | b | 6±2 | c |
| Imidacloprid 2% WP | 6±4 | b | 56±8 | a | 100 | a | 100 | a |
| Methomyl 24.1% SL | 54±8 | a | 72±12 | a | 92±6 | a | 100 | a |
| Phosphamidon 50% SL | 10±6 | b | 0 | b | 6±2 | b | 20±7 | bc |
| Control | 0 | b | 0 | b | 0 | b | 0 | c |

^a Mean followed by the same letter in column is not significantly different ($P = 0.05$; Scheffe's test [SAS Institute 1986]).

Table 4. 12 of some insecticides to *E. fetida* using the surface sprayed soil test

| Insecticide | Mortality (mean±SE, %) ^a | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|---|------------------------|---|--------------|---|--------------|----|
| | 0.5-fold Appl. | | Recommended dose Appl. | | 2-fold Appl. | | 4-fold Appl. | |
| Carbaryl 50% WP | 0 | b | 4±2 | b | 4±2 | b | 10±3 | c |
| Cypermethrin 5% EC | 0 | b | 0 | b | 0 | b | 0 | c |
| Deltamethrin 1% EC | 0 | b | 0 | b | 0 | b | 4±2 | c |
| Dichlorvos 50% EC | 0 | b | 0 | b | 4±2 | b | 6±2 | c |
| EPN 45% EC | 0 | b | 0 | b | 0 | b | 4±2 | c |
| Esfenvalerate 1.5% EC | 0 | b | 0 | b | 4±2 | b | 4±2 | c |
| Fenitrothion 40% WP | 0 | b | 0 | b | 8±4 | b | 12±4 | c |
| Flucythrinate 3% EC | 0 | b | 0 | b | 0 | b | 0 | c |
| Furathiocarb 10% WP | 0 | b | 0 | b | 8±4 | b | 12±2 | c |
| Imidacloprid 2% WP | 4±2 | b | 32±4 | a | 60±5 | a | 74±6 | a |
| Methomyl 24.1% SL | 34±5 | a | 50±8 | a | 56±9 | a | 62±5 | a |
| Phosphamidon 50% SL | 0 | b | 0 | b | 6±4 | b | 24±2 | bc |
| Control | 4±2 | b | 0 | b | 0 | b | 0 | c |

^a Mean followed by the same letter in column are not significantly different ($P = 0.05$; Scheffe's test [SAS Institute 1986]).

Table 5. 12 of insecticides to *E. fedita* using the direct contact-filter paper application

| Insecticide | Mortality (mean±SE, %) | | | |
|-----------------------|------------------------|------------------------|--------------|--------------|
| | 0.5-fold Appl. | Recommended dose Appl. | 2-fold Appl. | 4-fold Appl. |
| Carbaryl 50% WP | 20 | 20 | 30 | 20 |
| Cypermethrin 5% EC | 0 | 0 | 20 | 40 |
| Deltamethrin 1% EC | 0 | 0 | 0 | 10 |
| Dichlorvos 50% EC | 0 | 10 | 20 | 20 |
| EPN 45% EC | 0 | 0 | 20 | 30 |
| Esfenvalerate 1.5% EC | 10 | 0 | 0 | 30 |
| Fenitrothion 40% WP | 0 | 40 | 40 | 60 |
| Flucythrinate 3% EC | 0 | 0 | 0 | 10 |
| Furathiocarb 10% WP | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Imidacloprid 2% WP | 80 | 100 | 100 | 100 |
| Methomyl 24.1% SL | 20 | 30 | 40 | 40 |
| Phosphamidon 50% SL | 0 | 0 | 0 | 30 |
| Control | 0 | 0 | 0 | 0 |

imidacloprid WP이 60%의 치사율을 보였고, 추천량의 4배량 처리에서는 Imidacloprid WP가 74%, methomyl SL이 62%, phosphamidon SL이 24%의 치사율을 나타냈다.

여지접촉법에 따라 12종의 살충제에 대한 줄지렁이의 치사율에 미치는 영향을 평가하기 위하여 추천사용량과 추천사용량의 0.5, 2, 4배량을 처리하여 줄지렁이 치사율을 조사하였다(Table 5). 추천량의 0.5배 처리량에서는 imidacloprid WP가 80%의 치사율을 나타냈고, 추천량에서는 imidacloprid WP가 100%, fenitrothion WP가 40%, methomyl SL가 30%의 줄지렁이 치사율을 나타냈다. 또한 추천량의 2배량 처리에서는 imidacloprid WP가 100%, fenitrothion WP가 40%, methomyl SL가 40%의 치사율을 보였고, 추천량의 4배량 처리에서는 imidacloprid WP가 100%, fenitrothion WP가 60%, methomyl SL가 40%, cypermethrin EC 40%가 치사율을 나타냈다.

고 찰

농약의 급성독성 평가는 평가방법마다 단점을 가지고 있어 한가지 방법만 사용하게 되면 오류를 범할 가능성이 높기 때문에 이미 알려진 여러 가지 방법을 사용해서 평가하는 것이 바람직하다. 특히 지렁이의 경우 이동성이 크기 때문에 여러 가지 방법으로 농약의 독성이 평가되어야 한다. 따라서 이 실험에서는 12종의 살충제에 대해서 인공토양법으로 줄지렁이에게 미치는 위해성 평가를 실시하였고, 이 농약이 실제 농경지에 뿌려지는 사용량을 기준으로 침지법, 표토처리법, 여지접촉법으로 줄지렁이의 치사율을 비교 평가하였다. 4가지 방법에서 모두 공통적으로 독성이 강하게 나타난 농

약은 methomyl SL와 imidacloprid WP이었다. Methomyl은 DuPont 회사가 1966년에 개발한 약제로 우리나라에는 1975년에 소개되어 담배나방, 진딧물 등에 사용되어 왔다. 하지만 최근에 선진국들에서 토양생물의 중요성을 인식하여 지렁이를 이용하여 독성을 평가 한 결과 맹독성(Extremely toxic)으로 보고하였다(Edward와 Thompson, 1973; Stringer와 Wright, 1976; Ruppel와 Laughlin, 1977; Haque와 Ebing, 1983; Roberts와 Dorough, 1984). Imidacloprid는 신경계의 니코틴 수용체에 길항 작용을 하는 Neonicotinoid계 농약으로 알려져 있으며, 유기인계 살충제 농약과는 달리 인축 독성이 낮아 유기인계살충제 농약의 대체농약으로 각광받고 있다. 하지만 지렁이에 대한 독성(LC₅₀)은 10.7 mg/kg으로 매우 높은 것으로 밝혀졌다(Tomlin, 2003). 따라서 이 실험의 결과를 근거로 할 때 methomyl 액제와 imidacloprid 수화제는 관행적으로 살포시 토양 서식 지렁이에 영향이 있을 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Campbell, P. M. and Hutchinson, T. H. (1998) Wildlife and endocrine disruptors: requirements for hazard identification. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 127-135.
2. Edwards, C. A. and Thompson, A. R. (1973) Pesticides and the soil fauna. *Residue Rev.* 45: 1-79.
3. Haque, A. and Ebing, W. (1983) Toxicity determination of pesticides to earthworm in the soil substrate. *Z. Pflanzenkrank Pflanzenschutz* 90: 395-408.
4. Lee, S. G. (1995) Eco-toxicity assessment on

- pesticide. *Pesticide & Environment* pp. 49-55.
5. Robert, B. L. and Dorough, H. W. (1984) Relative toxicities of chemicals to the earthworm, *Eisenia foetida*. *Environ. Toxicol. Biochem.* 3: 67-78.
 6. Ruppel, R. F. and Laughlin, C. W. (1977) Toxicity of some soil pesticides to earthworms. *J. Kansas Ent. Soc.* 50: 113-118.
 7. Stringer, A. and Wright, M. A. (1976) The toxicity of benomyl and some related 2-substituted benzimidazoles to the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Pestic. Sci.* 7: 459-464.
 8. Tomlin, C. D. S. (2003) The pesticide manual, 13th ed., imidacloprid, pp. 562-564. BCPC.
 9. Zou, E. and Fingerman, M. (1999) Effect of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 38: 281-285.
-