

Bifenthrin과 Imidacloprid의 작물잎에서의 잔류량과 꿀벌에 대한 독성

조경원* · 박현주 · 배철한 · 김연식 · 신동찬 · 이승열 · 이석희 · 정창국 · 박연기¹ · 김병석¹ · 이규승²

한국삼공(주) 농업연구소, ¹국립농업과학원 농산물안전성부, ²충남대학교

(2010년 8월 24일 접수, 2010년 9월 4일 수리)

Residual Toxicity of Bifenthrin and Imidacloprid to Honeybee by Foliage Treatment

Kyung-Won Cho*, Hyun-Ju Park, Chul-Han Bae, Yeon-Sik Kim, Dong-Chan Shin, Seung-Yeol Lee, Suk-Hee Lee, Chang-Kook Jung, Yeon-Ki Park¹, Byung-Seok Kim¹ and Kyu-Seung Lee²

Agricultural Research Center, Hankooksamgong Co. Ltd., ¹Pesticide Safety Division, National Academy of Agricultural Science, ²Dept of Bio Environmental Chemistry, Chungnam National University

Abstract

Foliage residue toxicity experiment was performed against honeybee (*Apis mellifera*) with bifenthrin, a synthetic pyrethroid insecticide with strong acute contact toxicity and imidacloprid, a neo-nicotinoid insecticide with strong acute oral toxicity to know the honeybee toxicity at the residue level on the leaves of alfalfa and apple. Also, the formulation differences to honeybee toxicity were investigated with WP (2%) and EC (1%) of bifenthrin and WP (10%) and SL (4%) of imidacloprid. Generally, foliage residual toxicity of honeybee and residual amounts of tested insecticides was higher in alfalfa leaves with large leaf area per unit weight than in apple leaves. While on the other hand, the only bifenthrin WP treatment showed higher honeybee toxicity on apple leaves than alfalfa. Although imidacloprid showed higher residue amounts ranged 4.9~25.4 mg·kg⁻¹ than bifenthrin ranged 0.6~12.7 mg·kg⁻¹ on the leaves, the residual toxicity to honeybee was lower than bifenthrin because of its strong penetration character. In conclusion, the residual toxicity of insecticide to honeybee could be affected by the contact and vaporized toxicity of chemical, the residual amounts on the surface of leaves, and the leaf area per unit weight and formulation differences.

Key words honeybee, residue, toxicity, bifenthrin, imidacloprid

서 론

Bifenthrin과 imidacloprid는 꿀벌에 대한 급성독성이 강한 살충제로 알려져 있다. bifenthrin은 합성 pyrethroid계 살충제로서 곡물, 과일, 채소 등의 해충방제에 주로 사용된다. 주요 독성작용은 대부분 신경독성으로 과민반응, 전율, 운동장애, 경련 그리고 마비 등을 일으킨다(Bradlbury 등, 1983). 이러한 합성 pyrethroid계 살충제는 해충뿐만 아니라 꿀벌에도 영향

을 주고 있으며, 내우성과 내광성이 있어 잔효성이 뛰어나지만 침투성은 거의 없는 것으로 알려져 있다. Imidacloprid와 같은 neonicotinoid계통의 살충제는 곤충의 postsynaptic membrane 중 nicotinic acetylcholine receptor에 대한 선택적 길항체로 작용, 신경전달을 저해함으로써 해충을 치사시키는 작용기작을 나타낸다. 이 계열의 살충제들은 침투이행성이 높아 흡즙성 해충에도 높은 살충활성을 나타낸다. 특히 기존에 많이 사용되고 있는 유기인계, carbamate계 및 합성 pyrethroid계 살충제와는 그 기작이 상이하여 이들 살충제에 저항성을 나타내는 해충에 대하여 저 약량으로도 광범위하고 높은 살충

*연락처 : Tel. +82-31-374-8722, Fax. +82-31-374-1720

E-mail: jokw@30agro.co.kr

효과를 보이는 장점이 있다. 이러한 살충제 성분의 농약은 작은 입자가 식물체에 직접 살포되면 꿀벌에 접촉에 의해 영향을 받거나, 바람이나 열에 의한 휘발로 대기중으로 부유하게 되어 공기중의 농약입자는 개화기의 식물잎에 부착되어 꿀벌에 독성을 나타낼 수 있다.

농약에 대한 꿀벌의 위해성 평가는 EU 및 미국에서 개발하여 사용하고 있는 평가기법을 수정 보완하여 사용하고 있으며, 꿀벌의 섭식과 접촉에 의한 급성독성시험법과 엽상잔류에 의한 독성시험법으로 평가하고 있다. 꿀벌에 대한 급성독성이 강한 농약에 한하여 실시하는 엽상잔류 독성시험은 시험작물에 직접 시험농약을 살포하고 일정 시간 간격으로 작물의 잎만을 채취하여 꿀벌에 노출시켜 그 치사율과 영향을 조사하는 시험으로 EPA(1996) 시험법과 국내 농약품목 등록을 위한 시험기준과 방법(농촌진흥청고시 제2006-18)으로 고시되어 있다. 미국 EPA에서는 농약의 꿀벌에 대한 영향을 평가하기 위한 시험법들을 통합하여 급성접촉독성시험, 엽상잔류독성시험, 야외시험기준을 마련하고, 꿀벌에 영향을 있는 농약의 경우 그 사용을 엄격히 규제하고 있으며(USEPA, 1996a; USEPA, 1996b), OECD에서도 화학물질시험 guideline에 꿀벌접촉독성시험법과, 섭식독성시험법을 마련하여(OECD, 1998) 독성시험의 국제적인 기준을 제시하고 있다. 우리나라는 2000년에 농약등록시험 기준과 방법(농진청 고시 2000-1호)에 꿀벌에 대한 급성섭식독성 및 접촉독성시험 기준을 최초로 고시하였고, 2007년에는 꿀벌 엽상잔류독성시험법을 추가로 고시하여 농약사용에 따른 꿀벌의 피해를 최소화하기 위한 위해성평가체계를 정비해 왔다(농촌진흥청, 2007). 이에 따라 미국 EPA 및 OECD 국가에서는 꿀벌과 화분 매개충에 대한 농약의 위해를 줄이기 위해 꿀벌 독성 시험법 가이드 라인과 법적 관리 기준을 마련하고 꿀벌에 안전한 농약이 등록되어 사용하도록 농약등록을 위한 laboratory toxicity test, semi-field test, field test 등에 대한 꿀벌독성 자료를 요구하고 있다.

꿀벌 위해성 평가를 위해 실시하고 있는 엽상잔류독성시험은 살포된 농약이 잎에 잔류할 경우 잎에 부착된 농약에 꿀벌이 직접 접촉하거나 농약성분의 휘발에 의한 꿀벌의 영향을 파악하는 시험이다. 그러므로 농약의 작물체 잎에서의 잔류 특성과 작물체의 특성에 따라 꿀벌 독성에 크게 영향을 줄 수 있다. 농약의 작물체 잎에서의 잔류 특성에 영향을 주는 요인은 농약자체의 안정성(분해성과 침투이행성), 농약의 제형(희석살포제, 입제, 분제), 살포방법(살포기의 분무압력), 작물체 표면의 형태(굴곡, 털 등), 작물체의 중량에 대한 표면적 비율 따라 작물 잎에 부착되는 양과 잔류량이 달라진다. 특히,

작물체의 표면적 비율은 클수록 잔류량이 많고 표면적에 비하여 무게가 무거운 작물일수록 잔류량은 적어진다. 그리고 작물의 생장속도, 재배형태(시설, 노지), 보조제 첨가 등도 부착량과 잔류량에 영향을 미칠 수 있는 요인이다(김 등, 1996). 이러한 작물체 부착 특성에 따라 꿀벌에 미치는 영향도 다르게 나타날 수 있다. 일반적으로 수화제 농약은 작물체내 침투 효과가 적고 대부분 표면에 부착됨으로 물에 쉽게 씻겨 내려가지만, 유제나 액제 농약은 작물체내의 왁스층으로 쉽게 침투하므로 강우에 의하여 유실되는 양이 적어(김 등, 1996) 꿀벌이나 해충에 독성 영향을 크게 나타낼 수 있다.

본 연구에서는 꿀벌에 대한 급성독성이 강한 살충제인 bifenthrin과 imidacloprid가 포함된 농약을 대상으로 꿀벌 엽상잔류독성시험을 실시하였다. 시험농약의 꿀벌 급성독성은 농약 원제를 실험실 조건에서 직접 접촉시켜 48시간내에 나타나는 급성독성이다. 실제 환경에서 꿀벌이 영향을 받는 경우는 농약의 살포에 의한 직접적인 접촉에 의한 영향보다 작물에 살포된 후 작물체 잎에 잔류하면서 중장기적으로 꿀벌에 미치는 간접적인 영향이 중요하다. 그러므로 시험농약을 실제 작물에 살포하여 작물의 생장환경에서의 농약 잔류량과 꿀벌에 대한 영향을 조사하였다.

시험에 사용된 농약은 다른 특성을 가진 농약과 제형을 선정하여 비교 시험하였다. 일반적으로 물에 희석 살포하는 농약 중 수화제와 유제, 그리고 특성이 유사한 액제를 사용하여 제형간의 엽상 잔류량과 꿀벌 독성을 조사하였다. 또한 작물체 잎의 외형적인 특성에 따른 엽상 잔류특성과 독성을 파악하고자 시험작물로 알팔파와 사과나무를 선정하여 시험에 사용하였다. 각각의 시험작물에 시험농약을 살포한 후 시간경과에 따른 꿀벌 엽상잔류독성을 조사하고 작물체 잎에 부착된 잔류농약을 분석하여 작물 잎에서의 농약 잔류량과 꿀벌 독성간의 관계를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

시험농약

본 시험에 사용된 시험농약은 bifenthrin과 Imidacloprid로서 모두 화분매개 역할을 수행하는 꿀벌과 밀접한 작물에 사용하는 약제로서 시험농약의 제형별 특성 및 그에 따른 잎의 부착 잔류량과 독성간의 영향을 파악하기 위해 동일한 성분 농약의 각각 다른 제형의 농약을 선택하여 실험을 실시하였다. Bifenthrin은 비침투성 살충제로서 꿀벌에 대한 급성접촉독성이 $0.015 \text{ ug}\cdot\text{bee}^{-1}$ 로 꿀벌급성 경구독성에 비해 강하고, 수용해도가 $0.0025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 로 물에 잘 녹지 않는 특성을

Table 1. Toxicity profiles of tested pesticides on this study

Class	Pesticide	Honey bee toxicity
Pyrethroid Insecticide	Bifenthrin	LD ₅₀ ^{a)} (oral) 0.1 µg/bee (contact) 0.01462 µg/bee
Neonicotinoid Insecticide	Imidacloprid	LD ₅₀ ^{b)} (oral) 0.0037 µg/bee (contact) 0.081 µg/bee

^{a)} Pesticide Manual 2006 ^{b)} Bayer Cropscience

가지고 있으며, imidacloprid는 침투이행성이 강한 약제로서 꿀벌에 대한 급성경구독성이 0.0037 ug·bee⁻¹로 급성접촉독성에 비해 강하고, 수용해도가 610 mg·L⁻¹로 수용성이 높은 특징을 갖고 있다(Table 1).

Bifenthrin

Bifenthrin[2-methylbiphenyl-3-ylmethyl-(Z)-(1RS,3RS)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate]은 pyrethroid계 농약이며 비침투성 살충제로서 국내에는 bifenthrin WP(2%)가 1987에 등록되어 현재 7종의 제형에 27종의 작물에 등록되어 있으며, 이 중 시험농약으로 선정한 bifenthrin EC(1%)와 bifenthrin WP(2%)로 bifenthrin EC(1%)는 진딧물, 나방류의 해충에 사용하고 적용 작물은 밤, 사과, 배추, 고추 등에 등록되어 있으며, bifenthrin WP(2%)는 응애, 진딧물, 나방류, 노린재류 등에 해충방제에 사용하며, 사과, 수박, 오이 등의 작물에 등록되어 있다.

Imidacloprid

Imidacloprid[1-(6-Chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolin-2-ylidene amine]는 neonicotinoid계 농약으로 전세

계 60여개 국에서 사용되고 있는 침투성 살충제로서 7종의 제형에 27종의 작물에 등록되어 있다. 국내에서는 1993년에 imidacloprid GR(2%)가 등록된 후 현재는 수화제를 비롯한 7종의 제형에 29작물에 등록되어 사용되고 있으며, 이 중 꿀벌업상잔류 시험농약으로 선정한 약제는 imidacloprid WP(10%)와 imidacloprid SL(4%)로 Imidacloprid WP(10%)는 사과, 고추, 오이, 수박 등의 작물에 적용하며 진딧물, 나방류, 총채벌레류에 사용하는 살충제이며, imidacloprid SL(4%)은 진딧물, 벼멸구 등의 해충에 사용하고 사과, 벼 등의 작물에 적용되어 사용되고 있다.

시험작물

시험작물의 포장은 경기도 오산시 갈곶동 소재의 한국삼공(주) 시험포장에서 실시하였으며, 시험작물은 잎의 부착잔류량과 독성의 차이점을 비교하기위해 미국 EPA의 엽상잔류독성시험 공시 작물인 알팔파와 사과로 정하여 비가림 조건을 하여 시험기간 동안 강우에 의한 영향이 없도록 실시하였다.

시험생물

시험에 사용된 꿀벌은 서양종 황색꿀벌(*Apis mellifera L.*)



Alfalfa



Apple

Fig. 1. Experimental condition of alfalfa and apple.

로 시험전 건강한 일벌을 선택하여 사용하였다. 꿀벌은 양봉업자로부터 구입한 후 한국삼공(주) 농업연구소내의 사육 관리하는 봉군에서 채집하였다. 꿀벌을 벌통의 소비에서 채집하여 마취 통에서 CO₂ 가스로 마취한 후 생후 1~7일의 건강한 일벌만을 선별하여 시험에 사용하였다.

시험방법

꿀벌엽상잔류독성시험

꿀벌에 대한 엽상잔류독성시험방법은 미국 EPA의 엽상잔류독성시험법(Honeybee Toxicity of Residues on Foliage, OPPTS 850.3030)과 농촌진흥청 고시 2006-18호 꿀벌 엽상잔류독성시험법에 따라 수행하였다.

시험농약 살포농도와 살포량

각 시험농약의 살포농도(희석배수)는 농약사용지침서에 수록된 사용농도 중 최대농도로 하였으며(Table 2), 단위 면적당 살포 물량은 미국 EPA의 standard spray volume의 사과에 대한 살포 물량인 4500 L·ha⁻¹를 기준으로 알팔파 10 m²당 4.5 L, 사과나무 1주(10 m²)당 4.5 L를 약액이 흐를 정도로 골고루 1회 살포하였다.

시료채취 및 꿀벌노출

알팔파와 사과잎의 시료채취는 시험약제 살포 직후 4시간과 1일 이후부터는 1일 간격으로 가위로 잘게 잘라서 채취하였으며, 곧바로 실험실로 이동 후 건조한 잎만 분리하여 스텐레스 철망으로 제작된 원통형 케이지 (Ø15×5 cm)에 15 g씩 담아서 준비하였다. 꿀벌은 잎 채취 1시간 전 벌통의 소비에서 채집하여 투명한 아크릴로 제작한 채취 통에서 CO₂ 가스를 이용하여 마취한 후 생후 1~7일의 건강한 일벌만을 선별하여 시험에 사용하였으며, 선별된 꿀벌은 암실에서 순화시켰고 시험 시작 전 CO₂ 가스로 마취시킨 후 준비된 원통형

시험케이지에 25마리씩 6반복으로 노출시켰으며, 꿀벌 노출 24시간 후 꿀벌의 치사 및 중독증상을 조사하였다. 한편 시험기간은 24시간 뒤 치사율 조사에서 무처리구에 비해 25% 이상 치사율이 지속되면 계속 시험을 진행하였으며, 25% 미만으로 치사율이 관찰된 시점은 꿀벌에 대한 엽상잔류기간인 RT₂₅로 정하고 시험을 종료 하였다.

시험작물의 엽상잔류량 분석

꿀벌 엽상잔류독성을 진행하는 동안 작물체잎에 부착되어 있는 농약의 잔류량을 알아보기 위해 엽상잔류독성시험과 동일한 시기에 잎을 채취하여 잔류농약을 분석하였다.

Bifenthrin의 잔류분석

조제된 알팔파와 사과잎 5 g을 호모게나이저컵에 넣고 100 mL acetone을 가한 후 5000 rpm에서 5분간 마쇄 추출하였다. 추출물을 흡인여과하고 50 mL의 acetone으로 잔사 및 용기를 씻어내려 앞서의 여액과 합하였다. 합친 여액을 1000 mL 분액여두에 옮긴 후 포화식염수 20 mL와 증류수 100 mL를 차례로 넣은 후 *n*-hexane 100 mL, 50 mL씩으로 2회 분배 추출하고 분배액을 무수황산나트륨으로 탈수하여 35°C에서 감압 농축하였다.

농축잔사를 *n*-hexane 5 mL에 재용해하여 미리 *n*-hexane 5 mL로 활성화 시킨 florisil sep-pak cartridge에 전개시키고 *n*-hexane 5 mL와 ethyl acetate:*n*-hexane(5:95, v/v) 2 mL 흘려버렸으며, ethyl acetate:*n*-hexane(5:95, v/v) 5 mL로 용출하여 35°C에서 감압 농축하고 acetone 2 mL로 정용하여 GLC로 분석하였으며, 기기분석조건은 다음과 같다(Table 3).

Imidacloprid 잔류분석

조제된 알팔파와 사과잎 5 g을 호모게나이저컵에 넣고 100 mL acetone을 가한 후 5000 rpm에서 5분간 마쇄 추출하였

Table 2. Dose of pesticides applied on the tested crops

Pesticide	Crop	Application rate	Applied dose (a.i.)
Bifenthrin 2% WP	Alfalfa	4.5 g/4.5 L/10 m ²	0.09 g/ m ²
	Apple	4.5 g/4.5 L/tree	0.09 g/tree
Bifenthrin 1% EC	Alfalfa	9.0 ml/4.5 L/10 m ²	0.09 g/ m ²
	Apple	9.0 ml/4.5 L/tree	0.09 g/tree
Imidacloprid 10% WP	Alfalfa	2.25 g/4.5 L/10 m ²	0.225 g/ m ²
	Apple	2.25 g/4.5 L/tree	0.225 g/tree
Imidacloprid 4% SL	Alfalfa	4.5 ml/4.5 L/10 m ²	0.18 g/ m ²
	Apple	4.5 ml/4.5 L/tree	0.18 g/tree

Table 3. GLC condition for the analysis of bifenthrin in foliage

Instrument	Agilent 7890A Network GC System with u-ECD
Injector	Agilent 7683B series
Column	SPB-1 (30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m film thickness)
Temperature	Oven : 240 $^{\circ}$ C Injector : 280 Detector : 300
Flow rate	Carrier (N ₂) : 2mL/min Spilt vent : 20 mL/min Make-up : 60 mL/min
Injection volume	1 μ L
Data acquisition	Chemstation (Ver 4.01), Agilent technologies
Retention time	4.9 min

Table 4. UPLC/TUV condition for the analysis of imidacloprid in foliage

System	Waters ACQUITY TM with TUV
Column	UPLC TM (2.1 x 100 mm, 1.7 μ m)
Mobile phase	Water:Acetonitrile (75:25, v/v)
Wavelength	270 nm
Flow rate	0.3 mL/min
Injection volume	2 μ L
Data acquisition	Empower2
Retention time	1.9 min

다. 추출물을 흡인여과하고 50 mL의 acetone으로 잔사 및 용기를 씻어내려 앞서의 여액과 합하였다. 합친 여액을 1000 mL 분액여두에 옮긴 후 포화식염수 20 mL와 증류수 100 mL를 차례로 넣은 후 dichloromethane 100 mL, 50 mL씩으로 2회 분배 추출하고 분배액을 무수황산나트륨으로 탈수하여 35 $^{\circ}$ C에서 감압 농축하였다.

농축잔사를 ethyl acetate:n-hexane(50:50, v/v) 5 mL에 재용해하여 미리 n-hexane 5 mL로 활성화 시킨 silica gel sep-pak cartridge에 전개시키고 ethyl acetate:n-hexane(50:50, v/v) 15 mL를 흘려버렸으며, ethyl acetate:n-hexane(50:50, v/v) 20 mL로 용출하여 35 $^{\circ}$ C에서 감압 농축하고 acetonitrile: water(25:75, v/v) 2 mL로 정용하여 UPLC/TUV로 분석하였으며, 기기분석조건은 다음과 같다(Table 4).

결과 및 고찰

시험농약에 대한 꿀벌의 엽상잔류독성

시험농약에 대한 RT₂₅(Residual Toxicity)

시험농약인 bifenthrin과 imidacloprid를 대상으로 각각 다

Table 5. Residual Toxicity (RT) of test pesticides

Test pesticide	Crop	RT ₂₅ (day)
Bifenthrin 2% WP	Alfalfa	30
	Apple	41
Bifenthrin 1% EC	Alfalfa	9
	Apple	8
Imidacloprid 10% WP	Alfalfa	4
	Apple	3
Imidacloprid 4% SL	Alfalfa	2
	Apple	1

른 제형의 농약제품에 대해 꿀벌의 영향을 조사하기 위해 꿀벌에 대한 엽상잔류독성시험을 실시하였다. 그 결과, 꿀벌 노출 후 꿀벌에 대한 치사율이 25%이하로 나타나는 시간인 RT₂₅를 구하였다(Table 5). bifenthrin WP에서는 알팔파 30일, 사과 41일로 사과 잎과 알팔파 잎에서의 엽상잔류에 의해 30일 이상 꿀벌에 영향을 주고 있음을 알 수 있었다. bifenthrin EC는 알팔파에서 4일, 사과에서 3일로 나타났으며, imidacloprid WP는 알팔파 4일, 사과 3일, imidacloprid SL에서는 알팔파 2일, 사과 1일로 사과 잎보다 알팔파 잎에서 1일 정도 길었다.

Bifenthrin에 대한 꿀벌의 치사율

시간경과에 따른 시험농약의 꿀벌 치사율 RT₂₅를 보면 bifenthrin WP(2%)의 경우 알팔파에 시험농약을 살포한 후 21일까지도 82.7% 이상의 높은 치사율을 보이다가 그 후 9일 동안 급격히 감소하는 경향이 나타났다. 사과잎에서의 꿀벌 치사율은 알팔파 잎보다 더 길게 나타났으며, 농약 살포 후 36일까지도 92.6% 이상의 높은 치사율이 관찰되었는데, 그 이후 5일 동안 급격히 감소하였다. 그에 비해 bifenthrin EC(1%)는 시험농약 처리 후 알팔파에서는 6일까지 68% 이

Table 6. Foliage residual toxicity of bifenthrin WP(2%) and bifenthrin EC(1%) to honeybee

Pesticide	Crop	Mortality (days, %)																	
		4h	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	20	28	30	36	40	41
Bifenthrin WP	Alfalfa	100	100	-	97.9	-	92.9	-	100	-	-	100	82.7	-	28	15.3	-	-	-
	Apple	97.3	100	-	92.6	-	98.5	-	99.3	-	-	-	100	98.7	-	-	95.3	32.7	17.4
Bifenthrin EC	Alfalfa	100	94.7	88	-	60	-	68	-	38.7	12	-	-	-	-	-	-	-	-
	Apple	98.0	75	73	-	47	-	45	-	45	-	-	-	-	-	-	-	-	-

상의 높은 치사율을 보였고 점차 감소하여 9일차에 12%로 감소하였다. 사과 잎에서도 거의 유사한 경향으로 감소하여 8일차에 치사율이 11%로 줄어들었다(Table 6).

Imidacloprid에 대한 꿀벌의 치사율

시간경과에 따른 시험농약의 꿀벌 치사율 RT₂₅은 imidacloprid WP의 경우 알팔파에 시험농약을 살포한 후 4시간부터 2일 후까지 66.0~68.9%로 비교적 낮은 치사율이지만 꿀벌에 대한 영향이 지속되었고 3일과 4일까지 점차적으로 감소되고 있었다. 사과 잎에서도 알팔파 잎과 유사하게 낮은 치사율로 나타났으면 3일 후에 12.0%로 치사율이 감소하였다. Imidacloprid SL에서는 시험농약 처리 후 4시간에는 알팔파 잎과 사과 잎에서 꿀벌 치사율이 89.0% 이상으로 높았고 그 후 급격히 감소되었다(Table 7).

시험농약에 대한 시험작물의 엽상잔류분석

Bifenthrin의 엽상잔류량 분석 결과

Bifenthrin WP를 살포한 후 경과시간에 따라 알팔파 잎과 사과 잎에서 분석된 농약 잔류량 결과는 시험농약 살포 후 높은 잔류량은 보이다가 점차적으로 감소하고 있었다. 전체적으로 알팔파 잎에서의 잔류량이 사과 잎보다 많은 것을 알 수 있었다(Fig. 2). 약제처리 후 10일까지는 알팔파 잎에서 더 많은 잔류량이 나왔으나 차츰 감소하여 10일 이후에는 비슷한 수준으로 되었다. 그 이후 꿀벌 독성 경향과 유사하게 사과 잎에서의 잔류량이 약간 높은 수준으로 더 길게 잔류되었고 꿀벌 치사율이 25% 이하가 되는 41일차에는 잔류량이

1.06 mg·kg⁻¹으로 나타났고 1일차에 비해 8.14 mg·kg⁻¹ 감소하였다. 알팔파 잎에서도 RT₂₅인 30일의 잔류량이 1.45 mg·kg⁻¹으로 낮아졌고 4시간 잔류량에 비해 11.23 mg·kg⁻¹으로 많은 양이 감소하였다. 그러나, 꿀벌 치사율과 비교해 보면 알팔파 잎의 경우 치사율이 88.7%인 21일차 엽상 잔류량은 2.62 mg·kg⁻¹이고 꿀벌 치사율이 28%로 감소된 28일차 잔류량은 1.36 mg·g⁻¹으로 꿀벌 치사율이 61% 정도 감소함에도 불구하고 엽상 잔류량 감소는 1.26 mg·kg⁻¹으로 적은 양이 감소됨을 알 수 있었다. 또한 사과 잎에서의 잔류량 변화도 알팔파 잎과 거의 유사한 경향이었다.

한편 bifenthrin EC의 경우 살포 직후부터 3일 후까지 엽상 잔류량의 큰 감소는 보이지 않았다. 시험농약 처리 후 4시간에 비해 9일차의 감소량이 알팔파 잎에서 2.67 mg·kg⁻¹, 사과 잎에서 2.2 mg·kg⁻¹으로 bifenthrin WP에 비해 감소폭이 작았다. 엽상 잔류량은 전체적으로 알팔파 잎에서 사과잎

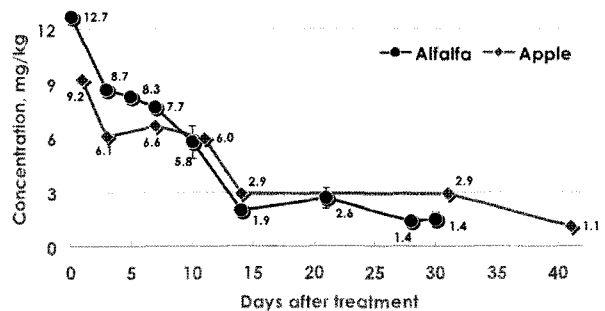


Fig. 2. Dissipation of bifenthrin WP (2%) in leaves under greenhouse condition.

Table 7. Foliage residual toxicity of imidacloprid WP (10%) and imidacloprid SL (4%) to honeybee

Pesticide	Crop	Mortality (days, %)				
		Alfalfa	1	2	3	4
Imidacloprid WP	Alfalfa	66.0	68.9	67.4	44.6	21.1
	Apple	60.0	38.2	50.0	12.0	-
Imidacloprid SL	Alfalfa	93.2	38.0	20.4	-	-
	Apple	89.0	22.2	-	19.3	-

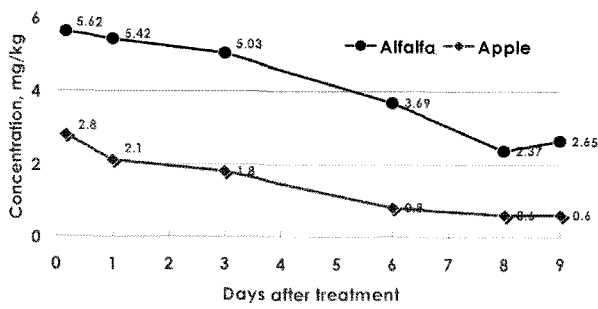


Fig. 3. Dissipation of bifenthrin EC (1%) in leaves under greenhouse condition.

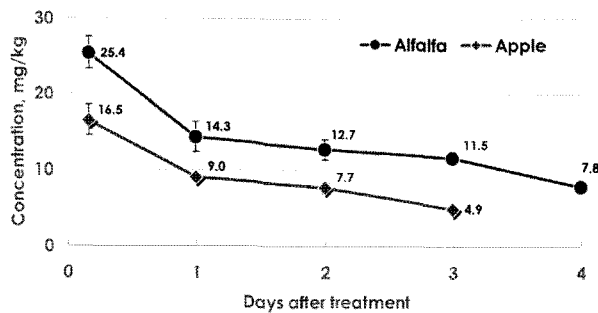


Fig. 4. Dissipation of imidacloprid WP (10%) in leaves under greenhouse condition.

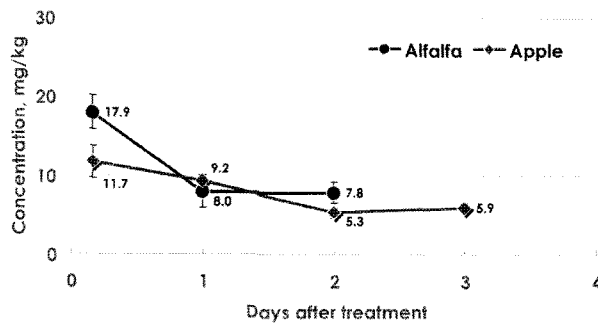


Fig. 5. Dissipation of imidacloprid SL (4%) in leaves under greenhouse condition.

보다 2.0~4.9배 많은 양이 검출되었다(Fig. 3).

Imidacloprid의 엽상잔류분석 결과

Imidacloprid WP는 처리 후 4시간에 알팔파 잎에서 25.37 mg·kg⁻¹, 사과 잎에서 16.5 mg·kg⁻¹으로 많은 양이 검출되었다. 시간 경과에 따라 점차적으로 감소하여 치사율이 25% 이하로 나타나는 알팔파 잎 4일차 시료에서는 7.83 mg·kg⁻¹, 사과 잎 3일차 시료에서는 4.86 mg·kg⁻¹으로 감소하였다(Fig. 4). 그리고 imidacloprid SL은 처리 후 4시간에 11.7~17.93 mg/kg으로 잔류량이 많았으나 처리 후 2일 만에 5.31~7.81 mg/kg으로 급격히 감소하는 양상을 보였다(Fig. 5).

Imidacloprid의 경우 농약 살포 후 초기 잔류량이 상당히 많았고 꿀벌 치사율이 25% 이하로 나타나는 날에도 imidacloprid WP는 4.86~7.83 mg·kg⁻¹, imidacloprid EC는 5.31~7.81 mg·kg⁻¹으로 많은 잔류량이 나타났다. 이러한 이유는 침투성이 강한 imidacloprid의 특성때문에 많은 양이 작물체 잎 내부로 침투하여 직접적으로 꿀벌에 영향을 미치지 못하고 있기 때문인 것으로 판단된다.

꿀벌에 노출된 알팔파 잎과 사과 잎을 각각 15 g 씩 채취하여 길이와 넓이를 측정하고, 평균 표면적을 비교하여 보았다. 각 시험작물의 무게 당 표면적이 사과 잎에 비해 알팔파 잎에서 평균 1.4배 더 넓은 결과를 나타냈으며, 이러한 표면적의 차이는 시험농약의 살포시 잎에 부착되는 잔류량에도 차이가 나서 결국은 꿀벌에 대한 영향에도 차이가 날 수 있음을 예상할 수 있었다(Table 8).

시험농약의 엽상잔류량 변화

Bifenthrin의 엽상잔류량의 변화

엽상잔류독성 시험법과 동시에 엽상 잔류량을 분석한 결과 bifenthrin 수화제를 살포한 후 경시적으로 채취한 알팔파

Table 8. Comparison of leaf area per unit weight of alfalfa and apple

Crop	Weight (g)	Number of leaf (Avg.±SD)	Size (cm)		Area (cm ²)
			length	width	
Alfalfa	15	236.5±65.8	3.2±0.6	2.0±0.1	994.9±189.5
Apple	15	14.7±3.1	10.2±0.8	7.4±0.5	714.2±32.6

Table 9. Persistence of bifenthrin WP (2%) on foliage treatment

Crop	Equation	r	DT ₅₀ (day)	DT ₇₅ (day)	DT ₉₀ (day)
Alfalfa	y = 10.352e ^{-0.0782x}	- 0.93**	13	18	30
Apple	y = 8.8029e ^{-0.0478x}	- 0.94**	15	29	49

Table 10. Persistence of imidacloprid WP (10%) on foliage treatment

Crop	Equation	r	DT ₅₀ (day)	DT ₇₅ (day)	DT ₉₀ (day)
Alfalfa	$y = 10.352e^{-0.2566x}$	- 0.95**	3	6	9
Apple	$y = 15.340e^{-0.3834x}$	- 0.98**	2	4	7

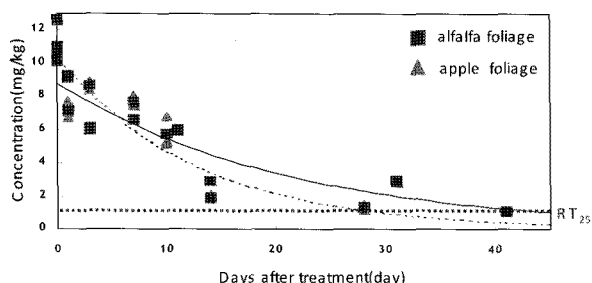


Fig. 6. Dissipation of bifenthrin WP (2%) in foliage treatment.

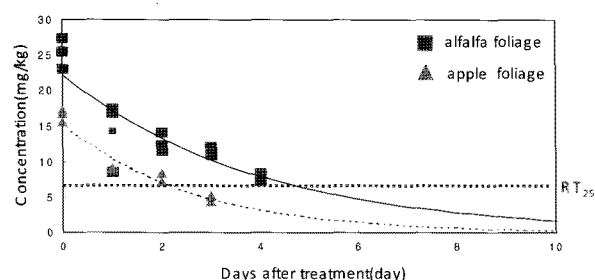


Fig. 7. Dissipation of imidacloprid WP (10%) in foliage treatment.

잎과 사과 잎의 bifenthrin의 엽상 잔류량 반감기가 각각 13일 15일로 조사되었지만 13일과 15일의 꿀벌의 치사율은 알팔파 잎에서는 82.7%와 사과잎에서는 100%를 보여 낮은 잔류 농도에서도 독성이 나타남을 알 수 있었다(Table 9).

Imidacloprid의 엽상잔류량 변화

엽상잔류독성 시험법과 동시에 엽상 잔류량을 분석한 결과 imidacloprid 수화제를 살포한 후 경시적으로 채취한 알팔파 잎과 사과잎의 imidacloprid의 엽상 잔류량의 반감기는 각각 3일과 2일로 조사되었으며, 3일과 2일의 꿀벌의 치사율은 알팔파 잎 42%와 사과 잎 50%를 보여 약제의 침투이행 특성과 관련되어 엽상 반감기도 짧게 나타났으며 꿀벌에 대한 독성 또한 낮아지는 것을 알 수 있었다(Table 10).

시험농약의 제제 형태에 따른 꿀벌 독성비교

Bifenthrin의 제제 형태간의 꿀벌독성을 검토해보면, bifenthrin WP(2%)와 bifenthrin EC(1%)을 동일한 농도로 처리하였으나, 약제처리 후 시간경과에 따른 꿀벌의 치사율(RT₂₅)은 bifenthrin

WP(2%)는 30~41일, bifenthrin EC(1%)는 8~9일로 처리 농도에 비해서 bifenthrin WP가 4.5배 가량 더 길은 잔류독성을 나타내었다. 이러한 결과는 비 침투이행성 특성을 갖고 있는 bifenthrin과 같은 약제의 경우 약제살포 후 대부분의 약제가 작물체 표면에 잔류하지만, 그중 제제의 형태가 대부분 표면적에 잔류하는 수화제의 형태의 제제가 작물체내의 왁스 층으로 쉽게 침투시켜 주는 유제 형태에 비해서 꿀벌의 잔류독성을 강하게 영향을 주는 것으로 볼 수 있다.

Imidacloprid의 제제 형태간의 꿀벌독성을 검토해보면, Imidacloprid WP(10%)가 Imidacloprid SL(4%)에 비해 처리된 약제의 표준 농도는 1.25배 정도 많았고, 약제처리 후 시간 경과에 따른 꿀벌의 치사율(RT₂₅)은 Imidacloprid WP(10%)는 3~4일, Imidacloprid SL(4%)는 1~2일로 처리제제간 특별한 차이는 없었지만 Imidacloprid WP가 2배 이상 높은 잔류독성을 나타내었다. 이러한 수화제 타입의 제제가 액제 타입에 비해서 작물체 표면에 더 잔류하면서 꿀벌의 잔류독성을 지속시키는 것으로 보고된 바 있다(Johansen 등, 1990). 이러한 결과는 침투이행성 특성을 갖고 있는 Imidacloprid와 같은 약제의 경우 약제 살포 후 대부분의 약제가 작물체 내로 쉽게 침투 이행되어 꿀벌의 잔류독성을 지속시키지는 않지만, 일반적으로 침투형태가 적은 수화제 타입의 제제가 액제 타입에 비해서 작물체 표면에 더 잔류하면서 꿀벌의 잔류독성을 지속시키는 것으로 나타났다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

Ahn K. S., M. G. Oh, H. G. Ahn, C. M. Yoon, and G. H. Kim (2008) Evaluation of toxicity of pesticides against Honeybee (*Apis mellifera*) and Bumblebee (*Bombus terrestris*). Korean J. Pesticide Science 12:382~390.

Atkins E. L. (1992) Injury to honey bee by poisoning. In: Graham J. E., The hive and the Honey bee. Dadant and Sons, Hamilton, pp. 1153~1208.

Bradbury, J. E., P. J. Forshaw, A. J. Gray and D. E. Ray(1983) The action of mephenesin and other agents on the effects produced by two neurotoxic pyrethroids in the intact and

- spinal rat. *Neuropharmacology*. 22(7):907~914.
- Cole, L. M., R. A. Nicholson, and J. E. Casida (1993) Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. *Pestic. Biochem. Physiol.* 46:47~54.
- Devillers J. and M. Pham-Dellegue (2002) Honey bee: estimating the environmental impact of chemicals. Taylor & Francis, London, pp. 332.
- Higes M., R. Martin and A. Meana (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J. Invertebrate Pathology*. 92:93~95.
- Iwasa T., N. Motoyama, J. T. Ambrose, and R. M. Roe (2004) Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop protection* 23:371~378.
- Johansen C. A. & D. F. Mayer (1990) Pollinator protection: a bee & pesticide handbook. Wicwas Press, Connecticut, pp. 212.
- Moffat, A. S. (1993) New chemicals seek to outwit insect pests. *Science (Wash., DC)* 22:495~504
- OECD (1998) OECD guidelines for the testing of chemicals No.213 Honey bee acute oral toxicity test. Paris, France.
- OECD (1998) OECD guidelines for the testing of chemicals No.214 Honey bee acute contact toxicity test. Paris, France.
- Sciencedaily (2008) Economic value of insect pollination worldwide estimated at U.S. \$217 Billion. Web address: <http://www.sciencedaily.com/releases/2008/09/080915122725.htm>
- USEPA (1996a) Ecological effect test guidelines OPPTS 850.3020 Honey bee acute contact toxicity. Washington DC, USA.
- USEPA (1996b) Ecological effect test guidelines OPPTS 850.3030 Honey bee toxicity of residue on foliage. Washington DC, USA.
- USEPA (2000) Notice to manufacturers, producers, formulators and registrants of pesticide products-Bee precautionary labeling statements. Pesticide registration Notice 2000-XX(draft). Washington DC, USA.
- Wilson W. T., P. E. Sonnet, and A. Stoner (1980) Pesticides and Honey Bee Mortality (From Beekeeping in the United States)
- British crop protection council : The Pesticide Manual (2006) Fourteenth Edition.
- 김병석, 박연기, 이용훈, 정미혜, 유아선, 양유정, 김진배, 권오경, 안용준 (2008) 딸기용 농약의 꿀벌에 대한 급성독성 및 엽상잔류독성, 농약과학회지 제 12권 제3호, pp. 220~235.
- 안기수, 오만균, 안희근, 윤창만, 김길하 (2008) 꿀벌과 서양 뒤영벌에 대한 농약의 독성평가, 농약과학회지 제 12권 제4호, pp. 382~390.
- 김병석, 양유정, 박연기, 정미혜, 유아선, 박경훈 (2009) Fipronil의 꿀벌(*Apis mellifera*)에 대한 위해성평가, 농약과학회지 제 13권 제1호, pp. 39~44.
- 김진화, 최주현, 이해근 (1996) 농업과학기술원 농약안전성과, 병해충 종합관리를 위한 농약의 안전사용.
- 殘留農藥分析法 (2002), 소프트사이언스社
- 농약사용지침서 (2008) 한국작물보호협회.
- 농촌진흥청 (2007) 농약관리법령 고시 훈령집. pp. 739.
- 농촌진흥청 (2009) 농약의 등록시험기준과 방법(농진청 고시 2006-18호).

Bifenthrin과 Imidacloprid의 작물잎에서의 잔류량과 꿀벌에 대한 독성

조경원* · 박현주 · 배철한 · 김연식 · 신동찬 · 이승열 · 이석희 · 정창국 · 박연기¹ · 김병석¹ · 이규승²

한국삼공(주) 농업연구소, ¹국립농업과학원 농산물안전성부, ²충남대학교

요약 꿀벌(*Apis mellifera*)에 대한 급성접촉 독성이 강한 살충제인 합성 피레스로이드계통 농약인 bifenthrin과 급성경구 독성이 강한 살충제인 네오니코티노이드 계통농약인 imidacloprid 대상으로 엽상잔류의 특성과 꿀벌에 대한 독성을 조사하고자 꿀벌에 대한 엽상잔류독성시험을 실시하였다. 시험농약은 제형이 다른 제품농약인 bifenthrin WP와 bifenthrin EC 그리고 imidacloprid WP와 imidacloprid SL을 사용하였으며, 잎의 특성이 다른 알팔파와 사과나무에 동일한 농약을 살포한 후 시험농약 각각의 꿀벌에 영향을 없다고 판단되는 치사율 25% 미만수준의 독성치(RT₂₅)와 시간 경과에 따른 엽상잔류량을 조사하였다. 시험결과 꿀벌 엽상잔류독성은 bifenthrin WP를 제외한 3종의 농약에서 사과잎에 비해 표면적이 큰 알팔파잎에서의 꿀벌 치사율이 사과잎보다 높게 나타났으며, 시간에 경과에 따른 엽상 잔류량도 사과잎보다 알팔파잎에서 전체적으로 많은 양이 잔류하는 경향을 보였다. 시험약제 간의 엽상 잔류량은 imidacloprid의 경우 4.9~25.4 mg·kg⁻¹범위 이었으며, bifenthrin은 0.6~12.7 mg·kg⁻¹이었는데, 살포약량이 많고 약제의 특성상 침투이행성이 강한 imidacloprid에서 잎에서의 잔류량은 많았으나 접촉독성이 상대적으로 강한 bifenthrin에 비해 꿀벌 독성은 짧게 나타났고 치사율도 낮았다. 결과적으로 꿀벌독성이 강한 농약은 작물체 잎 표면에 부착되어 잔류하면서 꿀벌에 직접 접촉하거나 휘발에 의해 영향을 줄 가능성이 크며, 작물체 잎의 특성과 농약의 물리화학적 특성뿐만 아니라 농약제제의 형태도 작물체 잎에서의 잔류량에 영향을 주어 꿀벌에 대한 독성 영향을 지속시키는 원인이 될 수 있다.

색인어 꿀벌, 잔류, 독성, bifenthrin, imidacloprid