

## Picoxystrobin 살포후 강우를 고려한 지렁이 위해성 평가

홍순성 · 유아선 · 정미혜 · 이재봉\* · 임양빈

국립농업과학원 농산물안전성부

## Earthworm Risk Assessment of Picoxystrobin Considering Rainfall after Spraying

Soonsung Hong, Are-Sun You, Mihye Jeong, Jae Bong Lee\* and Yangbin Ihm

National Agro-Food Safety Department, Academy of Agricultural Science, Suwon 441-707, Korea

(Received on October 29, 2013. Revised on November 12, 2013. Accepted on November 25, 2013)

**Abstract** This study was performed in order to assess the risk of earthworm when the picoxystrobin was sprayed in Korean orchard. The acute toxicity ( $LC_{50}$ ) of picoxystrobin active ingredient(99.3%) and soluble concentrate (25%) against earthworm was showed 10.93 mg/kg and 8-16 mg/kg respectively. This earth worm toxicity value means that the picoxystrobin do not show the earthworm risk in present Korean risk assessment system. However, in the test which was simulated the rainfall after spraying, all the earthworm were died in 24 hours. This result indicated that the risk assessment for the earthworm should be considered the weather condition.

**Key words** pesticide, earthworm, toxicity, risk assessment

## 서론

지렁이는 환형동물문(Annelida), 빈모강(Oligochaeta)에 속하며, 많은 마디들로 이루어진 길쭉한 몸통을 이용하여 이동하지만, 고등동물에서 볼수 있는 감각기관은 없는 것으로 알려져 있다. 지렁이의 원통모양의 몸통은 외부구분으로 표피, 마디, 환대, 입, 생식기, 강모, 등구멍으로 이루어져 있으며, 내부는 소화기관, 배설기관, 신경기관 및 생식기관으로 간단하게 이루어져 있다. 이러한 지렁이는 토양식생물 중 바이오메스가 크고, 지렁이가 섭취하여 배설한 분변토는 C/N율이 낮아 식물이 쉽게 이용할 수 있는 성분으로 만들고, 미생물이 많이 번식할 수 있기 때문에 유기물질의 순환과 식물의 생육에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Darwin, 1881). 또한 지렁이는 여러 가지 새와 포유류의 직접적인 먹이가 되어 환경의 먹이사슬에서 매우 중요한 역할을 하고 있다(Edwards and Lofty, 1977, Cooke, 1992). 이러한 중요성이 인정되면서 세계적으로 농약뿐 아

니라 화학물질의 생태계 위해성 평가 지표중 중 하나로 이용되고 있다(OECD, 1984).

유럽에서는 농약의 등록시 지렁이에 대한 급성영향과 만성영향을 동시에 평가한다. 이를 위하여 급성영향의 경우 급성독성시험의 반수치사농도( $LC_{50}$ : Median lethal concentration)와 환경중 추정농도(PEC, predicted environmental concentration)를 비교하고, 만성영향의 평가시에는 지렁이 번식독성의 무영향농도(NOEC, no observed effected concentration)와 환경중 추정농도(PEC, predicted environmental concentration)를 비교하여 위해성을 평가한다. 이 과정에서 위해성이 있을 것으로 판단될 경우에는 포장시험 등을 이용하여 추가평가하도록 하고 있다(EPPO, 1993). 반면 우리나라에서는 농약의 등록시 지렁이에 대한 위해성은 급성독성의 반수치사농도( $LC_{50}$ )와 환경중 추정농도(PEC)을 비교하여 TER (toxicity exposure ratio)을 이용하여 평가하며, 위해성이 있을 것으로 판단될 경우에는 번식독성 시험 또는 포장시험 등을 이용하여 추가평가하도록 하고 있다(Agrochemicals control act, 2012). 따라서 우리나라의 지렁이 위해성 평가 체계에서는 지렁이 위해성이 어느 정도 있어도 1단계 평가에서 위해성이 없다고 인정될 경우에는 추가자료의 평가없

\*Corresponding author

Tel: +82-31-290-0593, Fax: +82-31-290-0508

E-mail: jblee627@korea.kr

이 등록될 수 있으나, 이러한 평가방법 때문에 등록된 약제의 특성이나 기상여건에 의해 지렁이 위해성이 나타날 수 있는 가능성이 있다.

본 연구에서는 지렁이 위해성이 있다고 알려진 picoxystrobin 원제와 25% 액상수화제의 지렁이에 대한 독성과 위해성을 살펴보고, 과원에서 사용직후 강우 시에 발생할 수 있는 영향에 대하여 알아보고자 연구를 수행하였다. Picoxystrobin은 Zeneca (현 DuPont)에서 개발된 스트로빌투린계 살균제이며 cytochrome의 전자전달을 차단하여 미토콘드리아의 호흡기작을 저해하여 생물활성을 나타낸다고 알려져 있으며 다른 살균제와는 달리 지렁이에 대한 독성이 높은 것으로 보고되고 있다. 현재 국내에는 피록시스트로빈 액상수화제(25%), 입상수화제(25%), 펜티오피라드.피록시스트로빈 액상수화제(8 + 18%)가 등록되어 있으나 본 연구에서는 원제와 25% 액상수화제를 이용하여 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 시험물질

(주) 경농으로부터 picoxystrobin원제(99.3%)와 액상수화제(25%)를 분양받아 시험에 사용하였다.

### 시험생물

농촌진흥청 국립농업과학원에서 사육된 줄지렁이(*Eisenia fetida*)를 이용하였으며, 2개월 이상 성숙한 300~600 mg의 건강하고 균일한 개체를 선별하여 사용하였다.

### Picoxystrobin 원제를 이용한 지렁이 급성독성 시험

OECD 가이드라인에 제시된 바에 따라 picoxystrobin 원제의 지렁이에 대한 영향을 알아보았다. Peat, kaolin clay, 산업용 모래를 1 : 2 : 7의 비율로 인공토양을 조제하여 각 농도군당 500 g을 원통형의 유리제품(높이 12 m × 직경 15 cm) 용기에 담아 사용하였다. 시험기간 동안 20 ± 2°C, 습도 70~80%를 유지하였으며, 광은 400~800 Lux로 조사하였다. 또한 조제 된 시험토양 500 g에 증류수 175 ml를 가하여 최종 수분함량이 40%가 되도록 수분을 보정하였다. Picoxystrobin의 알려진 지렁이 급성독성성적을 참고하여 1, 2, 4, 8, 16 mg a.i./kg으로 5개의 농도군당 3반복으로 실험을 실시하였으며, 약제투여 후 일정시간 증류수가 증발되도록 방치한 후 3D Mixer를 이용하여 인공토양에 약제가 골고루 혼합되도록 하였다. 시험결과 치사수를 조사하여 probit program을 이용하여 LC<sub>50</sub>을 산출하였다.

### Picoxystrobin 액상수화제를 이용한 지렁이 급성독성 시험 인공토양을 이용한 지렁이 급성독성 시험

Picoxystrobin 원제와의 차이점을 알아보기 위하여 25%

액상수화제를 이용하여 지렁이에 대한 영향을 알아보았다. 원제시험과 동일하게 peat, kaolin clay, 산업용 모래를 1 : 2 : 7의 비율로 인공토양을 조제하여 이용하였으며, 시험기간 동안 20 ± 2°C, 습도 70~80%를 유지하였고, 광은 400~800 Lux로 조사하였다. 또한 조제 된 시험토양 500 g에 증류수 175 ml를 가하여 최종 수분함량이 40%가 되도록 수분을 보정하였다. 원제의 독성성적을 참고하여 2, 4, 8, 16 mg a.i./kg으로 4개의 농도군으로 3반복 시험을 수행하였으며, 제품을 이용한 시험도 약제투여 후 일정시간 증류수가 증발되도록 방치한 후 3D Mixer를 이용하여 인공토양에 약제가 골고루 혼합되도록 하였다. 시험결과 치사수를 조사하여 probit program을 이용하여 LC<sub>50</sub>을 산출하였다.

### 약제 살포후 강우를 가정한 시험

강우를 가정한 시험은 약제살포후 바로 강우가 있으며, 살포된 농약이 모두 빗물과 함께 지상에 흘러내린다는 가정에 의해서 진행되었다. 이를 위하여 처리면적당 살포되는 농약의 양을 계산하여 여과지를 넣은 유리접시에 처리하고 지렁이를 접종하였다. 농약사용지침서(Korea Crop Protection Association, 2012)에 명시된 사용방법에 따라 사과밭 1 ha에 picoxystrobin 25% 액상수화제의 살포물량은 4,500 L이고 물 20 L당 사용량은 10 mL로 계산하였고, 시험용기의 면적이 63.585 cm<sup>2</sup>이었으므로, 2,861 mL의 물에 약제 1.430 mg을 용해하여, 여과지를 넣어준 유리접시에 처리하고 지렁이를 접종한 후 관찰하였다. 이렇게 산출된 환경추정농도와 지렁이의 급성독성과 비교하여 환경추정농도가 지렁이 급성독성보다 낮을 경우 위해성이 없다고 판단한다.

### 지렁이 위해성 평가

지렁이에 대한 위해성 평가는 현재 우리나라에서 사용되고 있는 급성시험에 대한 위해성 평가법을 이용하여 수행하였다. 즉 지렁이의 급성독성과 계산상으로 구해지는 환경추정농도를 비교하여 평가하였다. 지렁이 1단계 위해성 평가를 위한 환경추정농도는 토양 깊이 7 cm에 처리된 picoxystrobin 골고루 분포하고 있다는 시나리오를 이용하여 산출하였다.

## 결과 및 고찰

### Picoxystrobin 원제를 이용한 지렁이 급성독성 시험

지렁이에 대한 picoxystrobin 원제의 독성을 측정한 결과 처리 7일후에는 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/kg 수준 처리에서는 치사되는 개체가 발견되지 않았으나, 최대 농도인 16 mg/kg 처리군에서 이미 86%의 치사율을 보이고 있었으며, 처리 14일 차에서는 치사율이 최대 농도인 16 mg/kg 처리군에서 97%에 이르고 있었고 8 mg/kg 처리군에서도 일부 치사되는 개체가 발견되었다(Table 1). 이를 이용하여 LC<sub>50</sub>을 계산한

**Table 1.** Earthworm cumulative mortality by picoxystrobin active ingredient (99.3%)

Treated concentration (mg/kg)	No. of earthworm	Dead No. of earthworm	
		7 days	14 days
0	10	0	0
	10	0	0
1.0	10	0	0
	10	0	0
2.0	10	0	0
	10	0	0
4.0	10	0	0
	10	0	0
8.0	10	0	1
	10	0	0
16.0	10	9	10
	10	7	9
	10	10	10

결과 picoxystrobin 원제의 지렁이 급성독성(LC<sub>50</sub>)은 10.93 mg/kg으로 확인되어 일반적인 살균제보다는 지렁이에 대한 영향이 훨씬 강한 것을 알수 있었다. 이러한 지렁이에 대한 독성은 EU에서 발행된 평가서(EU, 2003)에 나타난 3.4 mg/kg와 비슷한 경향임을 알수 있었다.

#### Picoxystrobin 액상수화제를 이용한 지렁이 급성독성 시험 인공토양을 이용한 지렁이 급성독성 시험

Picoxystrobin 25% 액상수화제를 이용하여 지렁이에 대한 급성독성을 측정된 결과 처리 7일후와 14일 후에서 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/kg 수준 처리에서는 영향이 발견되지 않았으나 최대 농도인 16 mg/kg 처리군에서는 7일차에 모두 치사되어, 원제의 결과와 비슷한 양상이 나타났다. 따라서 picoxystrobin 25% 액상수화제의 지렁이에 대한 LC<sub>50</sub>은 8-10 mg/kg 이라는 것을 알수 있었다(Table 2). 이를 이 토양 7 cm 깊이에서의 PEC와 비교하여 위해성 평가를 실시하였다. Picoxystrobin 25% 액상수화제를 사과밭에 등록된 것처럼 물 20 L에 2000배 희석하여 1 ha 당 450 L를 뿌린다고 하는 시나리오를 이용하여 토양 깊이 7 cm까지의 PEC를 계산하면 0.803 mg/kg이고, 이를 LC<sub>50</sub> 값인 8 mg/kg과 비교하면 독성노출비(TER, toxicity exposure ration)는 9.9 정도로 우리나라 기준인 2를 상회하므로, 1단계에서 위해성이 없는 것으로 평가되고, 그 이상의 검토 없이 등록이 가능하게 된다(Table 3). 그러나 picoxystrobin처럼 지렁이에 대한 독성이 강한 약제는 살포 후 강우가 있을 경우 뿌려진 약제가

**Table 2.** Earthworm cumulative mortality by picoxystrobin soluble concentration (25%)

Treated concentration (mg/kg)	No. of earthworm	Dead No. of earthworm	
		7 days	14 days
0	10	0	0
	10	0	0
1.0	10	0	0
	10	0	0
2.0	10	0	0
	10	0	0
4.0	10	0	0
	10	0	0
8.0	10	0	0
	10	0	0
16.0	10	10	10
	10	10	10

**Table 3.** Earthworm risk assessment of picoxystrobin 25% soluble concentration in Korean orchard

Earthworm LC <sub>50</sub> (mg/kg)	Applied amount/ha (g)	PEC (mg/kg)	TER
8	562.5	0.803	9.9

모두 밟으로 흘러내리게 되고, 숨을 쉬기 위해 지표로 나온 지렁이와 접촉할 경우, 지렁이를 집단폐사 시킬 가능성도 가지고 있다. 따라서 살포후 강우가 있을 경우를 가정한 시험을 실시하였다.

#### 약제 살포후 강우를 가정한 시험

약제 살포후 강우를 가정한 시험은 약제살포후 바로 강우가 있으며, 살포된 농약이 모두 빗물과 함께 지상에 흘러내린다는 가정에 의해서 진행된 시험에서는 실제 사용되는 수준의 농도로 처리한 처리구에서 24시간 내에 모든 개체가 치사하였다(Table 4). 이러한 결과는 앞에서 살펴본 바와 같이 농약의 등록시 실시되는 1단계 위해성 평가에서는 위해성이 낮은 것으로 나타날지라도 기상의 환경, 그리고 약제의 이동특성 등에 따라 지렁이에 치명적인 위해성을 나타낼 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 환경에서 지렁이의 보호를 위하여 위해성 평가시에 지렁이에 대한 독성이 높고, 노지에 사용되는 약제에 대해서는 살포 후 강우를 예상하는 위해성 평가 시나리오를 별도로 작성하여 운용하는 등, 현재의 위해성 평가를 보완할 수 있고, 우리나라 상황에 맞는 위해성 평가법의 개발이 시급하다는 것을 의미한다. 또한 지렁이의 보호를 위해서는 이와 같은 약제의 사용에 있어서는 강우가 예상될 경우 약제의 사용을 회피하도록 하는 등의 관리가 필요할 것으로 생각된다.

**Table 4.** Earthworm mortality of picoxystrobin 25% soluble concentration at the rainfall simulating test

Applied amount/ha (g)	No. of earthworm	Dead No. of earthworm
		24hours
0	10	0
	10	0
562.5	10	10
	10	10

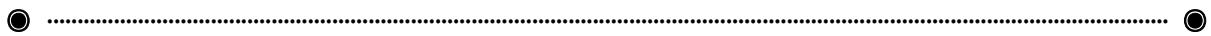
**감사의 글**

본 연구는 2013년 농촌진흥청의 “농약등록 신청자료의 검토 평가 및 관리(과제번호 PJ0063402013)”의 연구비 지원으로 수행된 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

**Literature Cited**

Cooke A. S., P. W. Greig-Smith and S. A. Johnes (1992) Consequences for a vertebrate wildlife of toxic residues in

earthworm prey. *Ecotoxicology of earthworms*, Intercept. p. 139-158.  
 Darwin C. (1881) The formation of vegetable mould through the action of worm with observation of their habit. London: John Murray. p. 328.  
 Edwards, C. A. and J. R. Lofty (1977) *Biology of earthworms*. Chamman and Hall, London.  
 EPPO (1993) Decision making scheme for the environmental risk assessment of the plant protection products. EPPO Bulletin 23:131-149.  
 European commission (2003) Review report for the active substance picoxystrobin.  
 OECD. (1984) OECD guidelines for testing of chemicals : Earthworm acute toxicity test. OECD guideline No. 207. Paris, France : OECD.  
 Korea Crop Protection Association (2012) *Agrochemicals use guid book*.  
 Rural development administration. *Agrochemicals control act*. Korea.



**Picoxystrobin 살포후 강우를 고려한 지렁이 위해성 평가**

홍순성 · 유아선 · 정미혜 · 이제봉\* · 임양빈

국립농업과학원 농산물안전성부

**요 약** 본 연구는 우리나라 과수에서 사용되는 살균제인 picoxystrobin의 지렁이에 대한 독성 및 위해성 평가를 위하여 수행되었다. Picoxystrobin 원제(99.3%)의 지렁이에 대한 급성독성(LC<sub>50</sub>)은 10.93 mg/kg이었으며, 액상수화제(25%)도 원제와 유사한 8-16 mg/kg을 나타내었다. 이러한 독성값은 현재 우리나라의 등록농약에 대한 지렁이 평가 기준에는 문제가 없는 수치이나, 실제 약제살포 후 강우를 예상한 모의시험에서 시험개시 24시간 내에 모든 지렁이가 치사하는 양상을 보였다. 이러한 결과는 약제의 특성과 살포 이후 강우를 고려한 위해성 평가의 필요성을 보여주고 있다.

**색인어** 농약, 지렁이, 독성, 위해성평가

