

송사리, 잉어 및 미꾸리에 대한 벼재배용 농약 4종의 혼합독성 평가

전경미* · 이환 · 황희철 · 박경훈 · 백민경 · 오진아 · 박수진 · 하현영 · 문병철

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부

Mixture toxicity of four pesticide products for rice fields to *Oryzias latipes*, *Cyprinus carpio*, and *Misgurnus anguillicaudatus*

Kyongmi Chon*, Hwan Lee, Hui Cheol Hwang, Kyung-Hun Park, Min Kyoung Paik, Jin-A Oh, Sujin Park, Huen-Young Ha and Byeong-Cheol Moon

Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju, Korea

(Received on November 2, 2017. Revised on November 27, 2017. Accepted on November 28, 2017)

Abstract Most farmers apply pesticides in mixtures to control pests and diseases of crops. Moreover, the contaminants found in aquatic environment usually occur, instead of single chemicals, as mixtures of compounds. Therefore, the joint toxicity of such combinations of pesticides on aquatic organism has been recognized as an important consideration. In this study, fish acute toxicity tests were conducted to investigate the effects of individual and joint pesticides (tricyclazole 75% wettable powder (WP) (TRI), phenthoate 47.5% emulsifiable concentrate (EC) (PHEN), fenobucarb 50% EC (FENO), and hexaconazole 10% EC (HEXA)) on *Oryzias latipes*, *Cyprinus carpio*, and *Misgurnus anguillicaudatus*. A toxic unit (TU) approach was used to test mixture toxicity and the summation of concentrations of the pesticide mixtures were equivalent to five concentrations: $\Sigma 0.5$, $\Sigma 0.75$, $\Sigma 0.5$, $\Sigma 1.0$, $\Sigma 1.5$, $\Sigma 2.0$. Two binary mixtures of FENO + PHEN, FENO + TRI and ternary mixture of FENO + PHEN + TRI exhibited synergistic effects in 96-h LC₅₀ of *Oryzias latipes*. Two binary mixtures of FENO + TRI, PHEN + TRI showed synergistic effects in 96-h LC₅₀ of *Cyprinus carpio*. Only Additive or antagonistic effects were observed in the mixture toxicity tests for *Misgurnus anguillicaudatus*. The ternary mixtures of FENO + HEXA + PHEN showed antagonistic effect for three fish species and other mixtures exhibited different toxic effects depending on fish species. Toxicity exposure ratios (TERs) of pesticide mixtures for three fish species in agricultural drain were higher than 2, indicating no risk to fish. However, TERs of some pesticide mixtures for each fish species were lower than 2 in rice paddy, indicating mixtures pose a risk to fish. Therefore, more attention should be paid to the mixture toxicity of pesticides when defining standard for risk assessment protocols.

Key words *Cyprinus carpio*, *Misgurnus anguillicaudatus*, mixture toxicity, *Oryzias latipes*, pesticides

서 론

대부분의 농가에서는 시간, 노동력 절감 및 병해충 방제 효율을 증대시키기 위해 살충제와 살균제를 2종이상 혼합하여 살포하고 있다(Halimatunsadiah et al., 2016). 또한 미국 지표수 중 50% 이상에서 5종 이상의 농약이 발견된다고 알

려져 있다(U.S. Geological Survey 1998). 이처럼 농약 혼합물은 수생태계를 지지하는 호수, 강, 지표수 등에서 매우 일반적으로 나타난다(Gillion, 2007). 이러한 혼합물은 첨가효과(effective)나 상승효과(synergistic)를 나타낼 수 있으며 이는 수생태계에 부정적인 영향을 끼칠 수 있다(Phyu et al., 2011). 그런 까닭에 EU council commission 리포트에서는 농약의 혼합독성 평가를 권고하고 있다(Commission, 2012). 이러한 혼합물 독성을 예측하는 이론에는 두 가지 기초적인 개념이 있다(Hewlett and Plackett, 1952): (1) concentra-

*Corresponding author
E-mail: kmchon6939@korea.kr

tion addition (CA)은 각 독성물질이 같은 독성기작(mode of action)을 가지고 있고 서로 상호 작용이 없다, (2) independent joint action (IA)은 각 독성물질이 다른 독성기작을 가지고 있고 서로 상호작용이 없다. 이 예측모델을 사용한 독성 값과 실험 값에서 차이가 발생하면 독성이 감쇄(antagonistic) 또는 상승효과가 나타난다는 것을 알 수 있다.

어류는 수생태계에서 가장 중요한 생물 중 하나이며 영양계나 에너지 흐름 및 먹이사슬에서 중요한 역할을 한다(Wang et al., 2013). 농약은 어류의 아가미 같은 주요 기관에 다양한 작용으로 영향을 준다(Gallagher and Diguilo, 1992). 이러한 영향을 평가하기 위해 어독성시험을 수행하며, 사용되는 어종은 송사리(*Oryzias latipes*), 잉어(*Cyprinus carpio*), 제브라피쉬(*Danio rerio*) 등이 있다.

최근 어류를 이용한 농약의 혼합독성을 평가하는 다양한 연구들이 진행되고 있다. Wang et al. (2017)은 제브라피쉬의 성장단계별로 제초제와 살충제의 혼합독성에 대한 영향을 평가하였다. Teather et al. (2005)은 endosulfan 등 농약 3종의 혼합물이 환경 중 농도에서 송사리의 번식 및 치사에 주는 영향을 보고하였고 Ambreen and Javed (2015)은 chlorpyrifos, bifenthrin 및 endosulfan의 잉어에 대한 혼합독성을 평가한 결과를 발표하였다.

또한 유기인계와 카바메이트계 농약의 혼합독성은 은연어(coho salmon) 및 잉어의 acetylcholinesterase (AChE) activity를 측정하여 평가한 연구결과도 보고되었다(Laetz et al., 2009; Wang et al., 2015).

위 연구결과와 농약의 혼합 조합별로 상승효과, 첨가효과 및 감쇄효과 등이 나타났는데 이는 농약간의 화학대사효소의 유도나 저해의 상호관계에 기인한다고 알려져 있다. 농약은 다른 화학물질에 의해 유도 또는 저해되는 효소에 의해 대사화되며 혼합된 화합물의 흡수는 농약 활성화율과 무독화 과정을 변화시켜 농약의 독성 변화를 일으킨다(Thompson, 1996).

기존 연구에서는 대부분 독성 작용 기작을 알고 있는 원제를 사용하여 혼합조합에 따른 독성을 연구하였지만 실제 농업환경에서는 농약제품을 살포하기 때문에 농약제품에 대한 혼합독성 연구의 필요성이 대두되고 있다.

이에 본 연구에서는 2015년 국내 벼재배 농가에서 혼합 사용빈도가 높았던 살충제 2종(phenthoate 유제(EC), fenobucarb EC)과 살균제 2종(tricyclazole 수화제(WP), hexaconazole EC)을 선정하여 송사리, 잉어 및 미꾸리에 대한 농약 혼합조합에 따른 독성 및 위해 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시험물질

시험농약은 벼재용으로 사용되는 phenthoate 47.5% EC,

fenobucarb 50% EC, tricyclazole 75% WP, hexaconazole 10% EC을 사용하였다. Fenobucarb 와 phenthoate은 각각 카바메이트계, 유기인계 살충제로 AChE 효소를 저해하여 살충효력을 나타낸다(Barata et al. 2004). Tricyclazole 은 triazole계 살균제로서 멜라닌 합성 억제제이며 벼도열병 예방약제로 널리 쓰이고 있다(Wheeler and Greenblatt 1988). Hexaconazole은 triazole계 침투성 농약으로 ergosterol 생합성을 저해하여 ascomycetes 과 basidiomycetes에 대한 예방과 치료효과가 뛰어나다(Chen et al., 1996).

시험생물

급성독성시험에 사용한 어류는 국립농업과학원 독성연구실에서 사육 중인 송사리와 잉어를 사용하였고 미꾸리는 오성양식장에서 직접 구입하여 사용하였다. Table 1은 시험에 사용된 각 어류별 전장과 무게를 나타낸다.

농약에 대한 어류 급성독성시험

급성독성시험은 우리나라의 「농약의 등록시험기준과 방법」과 OECD의 화학물질 시험가이드라인 203 (OECD, 1992)에 준하여 시험하였다. 본 시험은 0~100% 치사율이 나타나도록 예비시험을 진행 후 본 시험 농도를 결정하였으며 5개 이상의 농도를 대수등 간격으로 설정하여 시험하였다. 송사리, 잉어 및 미꾸리는 유리수조에 10리터 사육수를 채워 시험농도 당 10마리씩을 넣은 후 시험용액을 교체하지 않는 지수식으로 시험하였다. 시험 기간 중 먹이는 공급하지 않았으며 산소는 포화산소농도의 60% 이상을 유지, 광조건 16시간 암조건 8시간, 온도는 어종에 따라 적정온도로 조절하였다. 24시간마다 치사어와 독성증상을 관찰하여 기록하였고 치사한 개체는 즉시 제거하였으며 pH와 DO, 온도를 측정하였다. 시험결과 분석은 0~100% 치사 농도 사이에 부분적인 치사 농도가 2개 이상일 경우 probit 법을, 2개 미만일 경우 Trimmed Spearman karber (TSK)와 moving average angle (EPA) 법을 사용하여 48시간, 96시간 LC₅₀ 값과 95% 신뢰한계를 산출하였다.

농약 혼합 독성시험

단일 농약 어류 급성독성시험 후 시험농약을 2종 6조합, 3종 4조합, 4종 1조합으로 송사리, 잉어 및 미꾸리에 노출시켜 어류 급성독성시험을 진행하였다. 농약 혼합물에 의

Table 1. The length and weight of *C. carpio*, *O. latipes*, and *M. anguillicaudatus*

Species	Length (cm)	Weight (g)
<i>O. latipes</i>	2.93 ± 0.22	0.24 ± 0.08
<i>C. carpio</i>	4.00 ± 0.37	0.67 ± 0.18
<i>M. anguillicaudatus</i>	7.51 ± 0.49	1.40 ± 0.31

한 독성은 toxicity unit (TU)으로 표현하였고 혼합물 농도 처리는 96시간 기준의 LC₅₀값을 이용하여 Σ0.5, Σ0.75, Σ0.5, Σ1.0, Σ1.5, Σ2.0 TU로 하여 계산하였다.

TU 계산식

화학물질의 EC₅₀ 값을 1 toxic unit으로 하고 TU의 합은 아래 식과 같이 계산하였다(Marking, 1985).

$$\text{sum TU} = \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{EC_{x_i}}$$

C_i: 혼합액 중 i물질의 농도; EC_{x_i}: x영향을 주는 i물질의 농도

농약혼합 조합이 TU <1 면 독성이 증가하는 상승효과, TU=1이면 첨가효과, TU >1 면 독성이 감소하는 감쇄효과를 나타낸다고 할 수 있다. 농약 혼합물에 의한 독성 시험 농도 TU의 범위는 총 TU 기준으로 5개 범위에서(Σ0.5, Σ0.75, Σ0.5, Σ1.0, Σ1.5, Σ2.0) 실시하였다. 예를 들어 1 TU=1/2 LC₅₀ (A농약) + 1/2LC₅₀ (B농약)으로 계산하여 혼합물 농도를 처리하였다.

농약 혼합 노출시 어류에 대한 위해성 평가

농약 4종의 혼합조합별로 어류에 대한 위해성평가는 우리나라 농약등록관리법 생태위해성 평가방법에 따라 독성노출비(TER)를 산출하여 평가하였다. 독성값은 실제 농약제품 혼합조합별로 얻은 독성시험결과 값을 이용하였다. 논물과 배수로에서 환경추정농도(PEC)는 아래 계산식을 이용하여 계산하였다(Park et al., 2009).

$$\text{논물 중 PEC} = \frac{10 \text{ a당 추천사용량(mg)}}{\text{수심 5 cm인 10a 논물의 양(L)}}$$

$$\text{배수로 PEC} = \frac{10 \text{ a당 추천사용량(mg)}}{\text{수심 5 cm인 10a 논물의 양(L)} \times 100}$$

$$\text{TER} = \frac{\text{LC}_{50} \text{ (mg/L)}}{\text{PEC (mg/L)}}$$

결과 및 고찰

2015년 벼재배 농가 농약 혼용 실태

2015년 벼재배 농가 128가구를 대상으로 농약사용에 대한 농사대장을 참고하여 연중 농약 혼용 가짓수와 월별 혼용빈도를 분석하였다. 2종과 3종 혼용이 전체 혼용 조합 중 82.3% 로 가장 많았고(Fig. 1) 월별 농약 혼합 살포 빈도는 7-8월달에 68.3% 로 농약 혼용을 가장 많이 한 것으로 파악

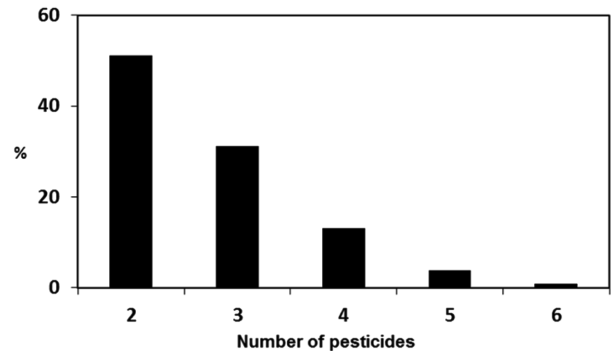


Fig. 1. The proportion of number of pesticides for mixture application.

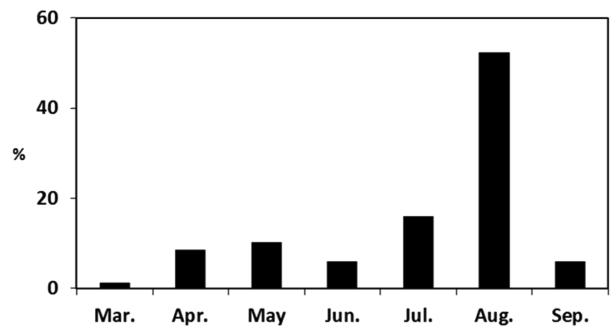


Fig. 2. The proportion of monthly pesticide mixture application.

되었다(Fig. 2). 또한 농약 혼용조사 결과 살균제와 살충제의 혼용이 전체 혼용 조합 중 70% 이상을 차지하였다. 따라서 본 시험에서는 실제 벼재배 농가에서 7-8월에 혼용을 많이 한 농약 살충제 2종과 살균제 2종을 선정하였다.

농약 4종의 어류 급성독성

Table 2는 어종별 독성시험에서 PH와 DO, 수온을 나타낸다. Table 3은 4종 농약에 대한 송사리, 잉어 및 미꾸리의 급성독성 결과를 나타낸다. Fenobucarb EC의 경우 송사리, 잉어 및 미꾸리의 48시간 LC₅₀은 9.81, 15.73, 18.43 mg/L, 96시간 LC₅₀은 8.73, 15.73, 18.43 mg/L이었다. Hexaconazole EC의 경우 송사리, 잉어 및 미꾸리의 48시간 LC₅₀은 5.35, 3.75, 2.54 mg/L, 96시간 LC₅₀은 5.16, 2.82, 2.34 mg/L이었다. Phenthoate EC의 경우 송사리, 잉어 및 미꾸리의 48시

Table 2. The values of pH, DO, and temperature

Species	pH	DO (mg/L)	Temperature (°C)
<i>O. latipes</i>	7.05~7.32	6.58~7.86	23.0~23.2
<i>C. carpio</i>	6.73~7.33	6.68~7.09	23.0~23.5
<i>M. anguillicaudatus</i>	7.12~8.89	7.01~8.02	24.8~25.0

Table 3. Acute toxicity of four pesticides to *O. latipes*, *C. carpio*, and *M. anguillicaudatus*

Pesticides	<i>O. Latipes</i>			<i>C. Carpio</i>			<i>M. anguillicaudatus</i>		
	LC ₅₀ (mg/L)		Ratio (48 h/ 96 h-LC ₅₀)	LC ₅₀ (mg/L)		Ratio (48 h/ 96 h-LC ₅₀)	LC ₅₀ (mg/L)		Ratio (48 h/ 96 h-LC ₅₀)
	48 h	96 h		48 h	96 h		48 h	96 h	
Fenobucarb 50% (EC)	9.81 (8.29~11.62)	8.73 (7.05~10.81)	1.12	15.73 (14.36~17.24)	15.73 (14.36~17.24)	1.00	18.43 (17.88~18.99)	18.43 (17.88~18.99)	1.00
Hexaconazole 10% (EC)	5.35 (4.93~5.81)	5.16 (4.60~5.78)	1.04	3.75 (3.57~3.95)	2.82 (2.53~3.13)	1.33	2.54 (2.29~2.82)	2.34 (2.07~2.66)	1.09
Phenthoate 47.5% (EC)	> 0.05	0.03 (0.02~0.05)	> 1.56	1.82 (1.57~2.55)	1.39 (1.16~1.76)	1.31	1.62 (1.43~1.84)	0.8 (0.69~0.93)	2.03
Tricyclazole 75% (WP)	11.60 (9.99~13.47)	6.77 (6.10~7.51)	1.71	21.63 (18.67~25.28)	16.69 (14.34~19.36)	1.30	23.80 (22.27~25.44)	15.62 (14.62~16.70)	1.52

간 LC₅₀은 >0.05, 1.82, 1.62 mg/L, 96시간 LC₅₀은 0.03, 1.39, 0.80 mg/L이었다. Tricyclazole WP의 경우 송사리, 잉어 및 미꾸리의 48시간 LC₅₀은 11.60, 21.63, 23.80 mg/L, 96시간 LC₅₀은 6.77, 16.69, 15.62 mg/L이었다. 48 h/96 h-LC₅₀값을 보면 fenobucarb EC 시험의 경우 잉어와 미꾸리 시험에서 시간 경과에 따른 독성 증가가 없었고 그 외 시험에서는 시간 경과에 따른 독성 증가를 보였다. 농약 4종 중 송사리, 잉어 및 미꾸리 독성시험에서 phenthoate이 가장 높은 독성을 나타내었고 그 다음으로 hexaconazol, fenobucarb, tricyclazole 순으로 낮은 독성을 나타내었다.

농약 혼합조합에 따른 어류 급성독성

Table 4는 농약 혼합조합에 따른 송사리, 잉어 및 미꾸리의 TU 값을 나타낸다. 송사리 48시간 독성시험의 경우 FENO + TRI, FENO + PHEN + TRI 조합은 독성 상승효과가 나타났고 FENO + PHEN 조합은 독성 첨가효과, 나머지 8조합에서는 독성이 감소하는 감쇄효과를 나타내었다. 96시간 시험의 경우 FENO + PHEN, FENO + TRI, FENO + PHEN + TRI 조합에서 독성상승효과가 나타났으며 FENO + HEXA, HEXA + TRI, FENO + HEXA + TRI, FENO + HEXA + PHEN + TRI 조합에서 독성 첨가효과가 나타났고 나머지 4조합에서는 독성 감쇄효과가 나타났다. FENO + TRI 조합은 송사리와 잉어 독성시험에서 모두 독성이 상승하는 효과가 나타났다.

잉어 48시간 독성시험의 경우 FENO + TRI, PHEN + TRI 조합에서 독성 상승효과가 나타났으며 HEXA + PHEN, FENO + HEXA + TRI, FENO + PHEN + TRI 조합에서 독성첨가효과가 나타났다. 나머지 6조합에서는 독성 감쇄효과가 나타났다. 96시간 시험의 경우 FENO + TRI, PHEN + TRI 조합에서 독성 상승효과가 나타났고 HEXA + PHEN, FENO + HEXA + TRI, FENO + PHEN + TRI, HEXA + PHEN + TRI 조합에서 독성첨가 효과가 나타났다. 나머지 5조합에서는 독성 감쇄효과가 나타났다.

미꾸리 독성시험 결과 48시간, 96시간에서 PHEN + TRI 조합은 첨가효과를 나타냈지만 나머지 9조합에서는 TU 값이 1보다 크게 나와 독성이 감소하는 감쇄효과를 나타내었다. 미꾸리 시험에서는 독성이 상승되는 조합은 나타나지 않았다.

FENO + HEXA + PHEN 조합은 송사리, 잉어 및 미꾸리 독성시험에서 모두 독성감쇄 효과가 나타났고 나머지 조합에서는 어종별로 독성 상승, 첨가, 감쇄 효과가 다르게 나타났다. 이는 선행연구 Ambreen and Javed (2015)의 chlorpyrifos, endosulfan, bifenthrin 모든 혼합조합에서 잉어 (*Cyprinus carpio*)가 초어(*Ctenopharyngodon idella*)보다 더 독성에 민감하게 반응한 결과에서 볼 수 있듯이 어종마다 독성 반응이 다를 수 있었다.

본 실험은 농약원제 대신 농약제품을 이용하여 실험을 하였기 때문에 작용기작에 대한 설명은 충분히 할 수 없지만 선행연구 결과와 비교해보면 농약의 혼합조합 및 어종에 따라 독성의 상승 및 감쇄효과가 다르게 나타난다는 것을 알 수 있다.

Pape-Lindstrom and Lydy (1997)은 TU 개념을 이용하여 갈따꾸리(*Chironomus tentans*)에 대한 atrazine과 유기인계 농약의 혼합독성을 평가하였다. 시험결과 atrazine과 다른 유기인계 농약 2종 혼합에서 독성이 상승하는 효과를 나타냈다. Laetz et al. (2009)의 연구결과에 의하면 유기인계와 카바메이트계 농약 2종 혼합에서 은연어(coho salmon)의 AchE 활동성을 저해하는 독성 첨가 또는 상승작용이 나타났다.

Wang et al. (2015)의 연구결과에 의하면 유기인계 농약과 카바메이트계 농약의 혼합 독성시험 결과 잉어 뇌의 50% AChE 저해(EC₅₀)를 측정했을 때 malathion + triazophos, triazophos + carbosulfan 조합에서 독성 상승효과를 나타냈다. 또한 제브라피쉬의 발달 단계(배아, 유생, 치어)별로 유기인계 살충제(phoxim, chlorpyrifos), pyrethroid계 살충제(λ -cyhalothrin) 제초제(atrazine, butachlor)의 혼합독성을 평

Table 4. Acute toxicity of pesticide mixtures to *O. latipes*, *C. carpio*, and *M. anguillicaudatus*

Pesticides ^{a)}	<i>O. Latipes</i>		<i>C. Carpio</i>		<i>M. anguillicaudatus</i>	
	LC ₅₀ (TU)		LC ₅₀ (TU)		LC ₅₀ (TU)	
	48 h	96 h	48 h	96 h	48 h	96 h
Binary mixtures						
FENO + HEXA	1.23 (1.05~1.43)	1.11 (0.93~1.32)	1.23 (1.03~1.45)	1.23 (1.03~1.45)	1.22	1.22
FENO + PHEN	0.85 (0.70~1.02)	0.59 (0.37~0.74)	1.21 (1.01~1.44)	1.21 (1.01~1.44)	2.02 (1.87~2.19)	1.73 (1.59~1.89)
FENO + TRI	0.65 (0.53~0.76)	0.52 (0.44~0.61)	0.6 (0.46~0.71)	0.56 (0.45~0.66)	1.22	1.18 (1.11~1.26)
HEXA + PHEN	2.07 (1.92~2.23)	2.07 (1.92~2.23)	1.01 (0.89~1.20)	1.01 (0.89~1.20)	2.24	2.07 (1.92~2.23)
HEXA + TRI	1.27 (1.10~1.46)	1.07 (0.93~1.25)	1.27 (1.10~1.46)	1.18 (1.03~1.36)	1.25	1.25
PHEN + TRI	1.61 (1.40~1.84)	1.36 (1.16~1.61)	0.63 (0.44~0.77)	0.63 (0.44~0.77)	0.99 (0.89~1.11)	0.92 (0.81~1.07)
Ternary mixtures						
FENO + HEXA + PHEN	2.13 (1.63~7.04)	1.95 (1.55~3.94)	1.54 (1.31~1.80)	1.54 (1.23~1.50)	1.73	1.62 (1.48~1.76)
FENO + HEXA + TRI	1.18 (1.03~1.36)	0.81 (0.61~1.00)	0.92 (0.81~1.07)	0.89 (0.77~1.04)	1.22	1.22
FENO + PHEN + TRI	0.70 (0.57~0.84)	0.48 (0.36~0.58)	0.91 (0.76~1.09)	0.85 (0.68~1.02)	1.31 (1.20~1.43)	1.27 (1.19~1.35)
HEXA + PHEN + TRI	1.69 (1.44~2.10)	1.35 (1.21~1.50)	1.31 (1.20~1.43)	0.92 (0.80~1.08)	1.73	1.51 (1.35~1.68)
Quaternary mixtures						
FENO + HEXA + PHEN + TRI	1.63 (1.37~2.06)	0.95 (0.77~1.16)	1.14 (1.05~1.25)	1.14 (1.05~1.25)	1.73	1.41 (1.26~1.57)

^{a)}FENO:Fenobucarb; HEX:Hexaconazole; PHE:Phenthoate; TRI:Tricyclazole

가하였는데 그 결과 phoxim과 λ-cyhalothrin을 포함한 동일 농도 및 동일 독성 모든 조합에서 제브라피쉬 유생에 독성 상승효과가 나타났다(Wang et al., 2017).

본 시험 및 선행연구결과에서 볼 수 있듯이 어종 및 농약 혼합조합에 따라 독성이 첨가 또는 상승되는 효과가 나타났는데 이는 단일 농약의 위해성평가는 실제 수계에서 농약혼합물의 위해성을 과소평가할 수 있음을 암시한다.

반면, 본 시험 결과 혼합독성에서 독성이 오히려 감소하는 감쇄효과가 나타나는 농약 조합과 어종이 있음을 알 수 있었다. 선행 연구에 의하면 비슷한 MOA를 가진 화학물질의 조합이 반드시 독성 첨가 또는 상승효과가 일어나는 것은 아니라고 알려져 있다(EI-Masri 2007). 이는 혼합물 중 한가지 화학물질이 독성역학에서 변화를 가져오기 때문이다(Hernandez et al. 2013). 예를 들어 Wang et al. (2017)의 제브라피쉬 독성시험에서 phoxim + chlopyrifos 조합, phoxim

+ atrazine + chlopyrifos + butachlor 조합에서는 독성 감쇄 작용이 나타났다. Phoxim과 chlopyrifos가 AChE 저해제로서 같은 MOA를 가졌다 할지라도 예상대로 독성 첨가효과가 나타나지 않았다.

농약 혼합조합에 따른 어류 위해성 평가

농약 혼용조합에 따른 송사리, 잉어 및 미꾸리에 대한 위해성평가는 독성 값 LC₅₀과 환경추정농도(PEC)를 비교하여 TER로 계산하였다. Table 5는 농약 혼용조합에 따른 송사리에 대한 독성 값과 환경 중 추정농도를 이용하여 논물과 배수로 중 독성 TER를 나타내었다. 논에서의 48시간 독성 값 기준 TER 값은 모든 조합에서 2를 초과하여 위해 가능성은 거의 없는 것으로 나타났지만 96시간 독성 값을 기준으로 TER를 계산한 결과 6개 조합에서 TER 값이 2 이하로 나와 위해 가능성이 있는 것으로 나타났다. 배수로에서는 48

Table 5. Toxicity exposure ratios (TERs) of pesticide mixtures to *O. latipes* for ecological risk assessment in aquatic environment

Pesticide mixtures ^{a)}	PEC (mg/l)		LC ₅₀ (mg/l)		TER (LC ₅₀ /PEC)			
	paddy	drain			paddy		drain	
			48 h	96 h	48 h	96 h	48 h	96 h
Binary mixtures								
FENO + HEXA	1.84	0.018	9.29	7.68	5.05	4.17	504.65	417.39
FENO + PHEN	1.92	0.019	> 4.21	2.59	> 2.19	1.35	> 219.28	134.90
FENO + TRI	1.52	0.015	6.95	4.03	4.57	2.65	457.24	265.13
HEXA + PHEN	3.12	0.031	> 5.59	5.37	> 1.79	1.72	> 179.13	172.12
HEXA + TRI	2.72	0.027	10.8	6.37	3.97	2.34	397.06	234.19
PHEN + TRI	2.80	0.028	> 9.38	4.63	> 3.35	1.65	> 334.94	165.36
Ternary mixtures								
FENO + HEXA + PHEN	3.44	0.034	> 10.81	9.03	> 3.14	2.63	> 314.37	262.50
FENO + HEXA + TRI	3.04	0.030	10.51	5.56	3.46	1.83	345.72	182.89
FENO + PHEN + TRI	3.12	0.031	> 5.01	2.48	> 1.61	0.79	> 160.58	79.49
HEXA + PHEN + TRI	4.32	0.043	> 9.57	5.38	> 2.22	1.25	> 221.55	124.54
Quaternary mixtures								
FENO + HEXA + PHEN + TRI	4.64	0.046	> 10.89	4.93	> 2.35	1.06	> 234.73	106.25

^{a)}FENO:Fenobucarb; HEX:Hexaconazole; PHE:Phenthoate; TRI:Tricyclazole

Table 6. Toxicity exposure ratios (TERs) of pesticide mixtures to *C. carpio* for ecological risk assessment in aquatic environment

Pesticide mixtures ^{a)}	PEC (mg/l)		LC ₅₀ (mg/l)		TER (LC ₅₀ /PEC)			
	Paddy	Drain			Paddy		Drain	
			48 h	96 h	48 h	96 h	48 h	96 h
Binary mixtures								
FENO + HEXA	1.84	0.018	11.93	11.36	6.48	6.17	648.37	617.39
FENO + PHEN	1.92	0.019	10.61	10.36	5.53	5.40	552.60	539.58
FENO + TRI	1.52	0.015	11.19	9.11	7.36	5.99	736.18	599.34
HEXA + PHEN	3.12	0.031	2.81	2.12	0.90	0.68	90.06	67.95
HEXA + TRI	2.72	0.027	16.17	11.49	5.94	4.22	594.49	422.43
PHEN + TRI	2.80	0.028	7.36	5.68	2.63	2.03	262.86	202.86
Ternary mixtures								
FENO + HEXA + PHEN	3.44	0.034	10.94	10.24	3.18	2.98	318.02	297.67
FENO + HEXA + TRI	3.04	0.030	12.59	10.49	4.14	3.45	414.14	345.07
FENO + PHEN + TRI	3.12	0.031	11.88	9.52	3.81	3.05	380.77	305.13
HEXA + PHEN + TRI	4.32	0.043	11.87	6.42	2.75	1.49	274.77	148.61
Quaternary mixtures								
FENO + HEXA + PHEN + TRI	4.64	0.046	12.23	10.44	2.64	2.25	263.58	225.00

^{a)}FENO:Fenobucarb; HEX:Hexaconazole; PHE:Phenthoate; TRI:Tricyclazole

시간, 96시간 독성 값 기준에서 TER 값이 2를 초과하여 위해성이 없는 것으로 추정되었다.

Table 6은 농약 혼용조합에 따른 잉어에 대한 독성 값과 환경 중 추정농도를 이용하여 논물과 배수로 중 TER를 나타내었다. 논에서의 48시간 독성 값 기준 HEXA + PHEN 조합의 TER 값이 2 이하가 나와 위해 가능성이 있는 것으로 나타났다. 96시간 독성 값을 기준으로 계산할 때는 3개 조합에서 TER 값이 2 이하로 나와 위해 가능성이 있는 것으로 나타났다. 배수로에서는 48시간, 96시간 독성 값 기준

에서 TER 값이 2를 초과하여 위해성이 없는 것으로 추정되었다.

Table 7은 농약 혼용조합에 따른 미꾸리에 대한 독성 값과 환경 중 추정농도를 이용하여 논물과 배수로 중 TER를 나타내었다. 논에서의 48시간, 96시간 독성 값 기준 HEXA + PHEN 조합의 TER 값이 2 이하로 나와 위해 가능성이 있는 것으로 나타났다. 배수로에서는 48시간, 96시간 독성 값 기준에서 TER 값이 2를 초과하여 위해성이 없는 것으로 추정되었다.

Table 7. Toxicity exposure ratios (TERs) of pesticide mixtures to *M. anguillicaudatus* for ecological risk assessment in aquatic environment

Pesticide mixtures ^{a)}	PEC (mg/l)		LC ₅₀ (mg/l)		TER (LC ₅₀ /PEC)			
	paddy	drain			paddy		drain	
			48 h	96 h	48 h	96 h	48 h	96 h
Binary mixtures								
FENO + HEXA	1.84	0.018	12.79	12.67	6.95	6.89	695.11	688.59
FENO + PHEN	1.92	0.019	20.25	16.63	10.55	8.66	1054.69	866.15
FENO + TRI	1.52	0.015	25.76	20.09	16.95	13.22	1694.74	1321.71
HEXA + PHEN	3.12	0.031	4.66	3.25	1.49	1.04	149.36	104.17
HEXA + TRI	2.72	0.027	16.46	11.23	6.05	4.13	605.15	412.87
PHEN + TRI	2.80	0.028	12.58	7.54	4.49	2.69	449.29	269.29
Ternary mixtures								
FENO + HEXA + PHEN	3.44	0.034	13.03	11.65	3.79	3.39	378.78	338.66
FENO + HEXA + TRI	3.04	0.030	18.21	14.8	5.99	4.87	599.01	486.84
FENO + PHEN + TRI	3.12	0.031	19.15	14.75	6.14	4.73	613.78	472.76
HEXA + PHEN + TRI	4.32	0.043	16.12	9.44	3.73	2.19	373.15	218.52
Quaternary mixtures								
FENO + HEXA + PHEN + TRI	4.64	0.046	20.06	13.11	4.32	2.83	432.33	282.54

^{a)}FENO:Fenobucarb; HEX:Hexaconazole; PHE:Phenthoate; TRI:Tricyclazole

본 시험은 실제 농가에서 TU 혼합조합에 따라 농약을 살포하지 않기 때문에 현실을 100% 반영한 것은 아니다. 하지만 농가에서 농약을 혼합하여 살포하는 것은 일반적인 사실이기 때문에 농약 제품 혼용시 위해 가능성을 어느 정도 가늠해 볼 수 있다. 본 시험결과 농약이 혼합물 상태로 환경 중에 노출될 때 배수로에서는 위해가능성이 없었지만 논물에서는 위해가능성이 있는 농약 혼합 조합이 있음을 알 수 있었다. 따라서 향후 환경생물 위해성 평가시 혼합독성 평가체계에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 국립농업과학원 기관고유 연구사업(과제번호: PJ0109372017)에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

Literature Cited

Ambreen, F. and M. Javed (2015) Assessment of acute toxicity of pesticides mixtures for *Cyprinus carpio* and *Ctenopharyngodon idella*. Pakistan J. Zool. 47(1): 133-139.

Barata, C., A. Solayan, and C. Porte (2004) Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna*. Aquat. Toxicol. 66(2):125-139.

Chen, T., C. Dwyre-Gygax, S. T. Hadfield, C. Willetts, and C. Breuil (1996) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for a broad spectrum triazole fungicide:

hexaconazole. J. Agric. Food Chem. 44:1352-1356.

Commission, E. (2012) Communication From the Commission to the Council: the Combination Effect of Chemicals-Chemical Mixtures. T. E. Commission, Brussels

Deneer, J. W. (2000) Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems. Pest. Manag. Sci. 56(6): 516-520.

EI-Masri, H. A. (2007) Experimental and mathematical modeling methods for the investigation of toxicological interactions. Toxicol. Appl. Pharmacol. 223:148-154.

Gallagher, E. P. and R. T. Di Giulio (1992) A comparison of glutathione-dependent enzymes in liver, gills and posterior kidney of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Comp. Biochem. Phys. C. 102(3): 543-547.

Halimatunsadiah, A. B., M. Norida, D. Omar and N.H. Kamarulzaman (2016) Application of pesticide in pest management: The case of lowland vegetable growers. Int. Food Res. J. 23(1):85-94.

Hewlett, P.S. and R.L. Plackett (1952) Similar joint action of insecticides, Nature 169:198-199.

Laetz, C. A., D. H. Baldwin, T. K. Collier, V. Hebert, J. D. Stark and N. L. Scholz (2009) The synergistic toxicity of pesticide mixtures: implications for risk assessment and the conservation of endangered Pacific salmon. Environ. Health Perspect. 117(3):348-353.

Lydy, M., J. Belden, C. Wheelock, B. Hammock and D. Denton (2004) Challenges in regulating pesticide mixtures. Ecol. Soc. 9(6):1.

Marking, L.L (1985) Toxicity of chemical mixtures. In G.M. Rand and S.R. Petrocelli, eds., Fundamentals of Aquatic Toxicology:Methods and Applications. Hemisphere, New

- York, NY, USA, pp. 164-176.
- OECD (1992) Guideline for testing of chemicals No. 203. Fish acute toxicity test.
- Pape-Lindstrom, P. A. and M. J. Lydy (1997) Synergistic toxicity of atrazine and organophosphate insecticides contravenes the response addition mixture model. *Environ. Toxicol. Chem.* 16(11): 2415-2420.
- Park, Y. K., C. H. Bae, B. S. Kim, J. B. Lee, A. S. You, S. S. Hong, ... and J. H. Lee (2009) The Risk Assessment of Butachlor for the Freshwater Aquatic Organisms. *Korean J. Pestic. Sci.* 13(1): 1-12.
- Phyu, Y. L., C. G. Palmer, M. S. J. Warne, G. C. Hose, J. C. Chapman and R. P. Lim (2011) A comparison of mixture toxicity assessment: examining the chronic toxicity of atrazine, permethrin and chlorothalonil in mixtures to *Ceriodaphnia cf. dubia*. *Chemosphere* 85(10): 1568-1573.
- Rodney, S. I., R. S. Teed and D. R. Moore (2013) Estimating the toxicity of pesticide mixtures to aquatic organisms: a review. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 19(6): 1557-1575.
- Thompson, H. M. (1996) Interactions between pesticides; a review of reported effects and mixtures of three pesticides. *Environ. Toxicol.* 20(1): 110-117.
- U.S. Geological Survey (1998) Pesticides in surface and ground water of the United States: summary of the results of the National Water Quality Assessment Program (NAWQA). U.S. Geological Survey, Washington, D.C., USA.
- Wang, D., Y. Yu, X. Zhang, D. Zhang, S. Zhang and M. Wu (2013) Organochlorine pesticides in fish from Taihu Lake, China, and associated human health risk assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 98: 383-389.
- Wang, Y., C. Chen, X. Zhao, Q. Wang and Y. Qian (2015) Assessing joint toxicity of four organophosphate and carbamate insecticides in common carp (*Cyprinus carpio*) using acetylcholinesterase activity as an endpoint. *Pestic. Biochem. Physiol.* 122: 81-85.
- Wang, Y., L. Lv, Y. Yu, G. Yang, Z. Xu, Q., Wang and L. Cai (2017) Single and joint toxic effects of five selected pesticides on the early life stages of zebrafish (*Denio rerio*). *Chemosphere* 170: 61-67.
- Wheeler, M. H., and G. A. Greenblatt (1988) The inhibition of melanin biosynthetic reactions in *Pyricularia oryzae* by compounds that prevent rice blast disease. *Exp. Mycol.* 12(2): 151-160.

● ● 송사리, 잉어 및 미꾸리에 대한 벼재배용 농약 4종의 혼합독성 평가

전경미* · 이환 · 황희철 · 박경훈 · 백민경 · 오진아 · 박수진 · 하현영 · 문병철

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부

요약 대부분 농가에서는 노동력 절감 및 병해충 방제효율을 증대시키기 위해 농약을 혼합 살포하고 있다. 또한 환경 중에는 농약이 개별적으로 노출되는 것이 아니라 여러 오염원들과 혼합되어 복합적인 독성을 나타내기 때문에 농약의 환경생물에 대한 혼합독성 연구가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 국내 벼재배 농가에서 혼합 사용빈도가 높았던 살충제 2종과 살균제 2종을 선정하여 송사리, 잉어 및 미꾸리에 대한 혼합독성 평가를 수행하였다. 시험농약은 벼재배용으로 사용되는 phenthoate 47.5% 유제(PHEN), fenobucarb 50% 유제(FENO), tricyclazole 75% 수화제(TRI), hexaconazole 10% 유제(HEXA)이며, 단일 제품 어류 급성독성시험 후 시험농약을 2종 6조합, 3종 4조합, 4종 1조합으로 송사리, 잉어 및 미꾸리에 각각 노출시켜 어류 혼합독성시험을 진행하였다. 농약 혼합물에 의한 독성은 toxicity unit(TU)으로 표현하였고 mixture 농도치리는 $\Sigma 0.5$, $\Sigma 0.75$, $\Sigma 0.5$, $\Sigma 1.0$, $\Sigma 1.5$, $\Sigma 2.0$ TU로 하여 계산하였다. 송사리 시험의 경우 96시간에서는 FENO + PHEN, FENO + TRI, FENO + PHEN + TRI 조합에서 독성 상승효과(synergistic effect)가 나타났다. 잉어 시험의 경우 96시간에서 FENO + TRI, PHEN + TRI 조합에서 독성 상승효과가 나타났다. 미꾸리 혼합 독성시험에서는 독성이 상승되는 조합은 없었으며 독성이 첨가(additive) 또는 감쇄(antagonistic)되는 조합만 관찰되었다. FENO + HEXA + PHEN 조합은 송사리, 잉어 및 미꾸리 독성시험에서 모두 독성 감쇄효과가 나타났고 나머지 조합에서는 어종별로 독성반응이 다르게 나타났다. 배수로에서 농약 혼합조합에 따른 위해성평가 결과 각어종에 대한 TER 값이 2를 초과하여 위해성이 없는 것으로 추정되었다. 하지만 논물에서는 각 시험어종별로 TER 값이 2 이하로 위해가능성이 있는 조합이 발견되어 향후 환경생물 위해성평가지 혼합독성 평가체계에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

색인어 혼합독성, 농약, 송사리, 잉어, 미꾸리

● ●