Korean Journal of Environmental Agriculture

Korean J Environ Agric. 2017;36(2):80-86. Korean
Published online 2017 June 30. https://doi.org/10.5338/KJEA.2017.36.2.18

Online ISSN: 2233-4173
Print ISSN: 1225-3537

Research Article

Open Access

*Chironomus riparius*의 급성 및 만성영향에 의한 농약의 퇴적토 독성평가

박정은, 황은진, 장희라*

호서대학교 바이오응용독성학과 · 제약공학과

Sediment Toxicity Assessment of Pesticides using *Chironomus riparius* Acute and Chronic Effect

Jung-eun Park, Eun-Jin Hwang and Hee-Ra Chang* (Department of Applied Biotoxicology · Department of Pharmaceutical Engineering, Graduate School of Hoseo University, Asan 31499, Korea)

Received: 12 June 2017 / Revised: 16 June 2017 / Accepted: 23 June 2017

ORCID

Hee-Ra Chang
http://orcid.org/0000-0002-0307-7703

Abstract

BACKGROUND: Pesticides is exposed in an aquatic environment and effected to benthic animals. Especially, sediment-associated pesticides is required for determination of sediment toxicity on aquatic organisms. This study was conducted to evaluate the impact of six pesticides (chlorfluazuron, difenoconazole, dithianon, flufenoxuron, flutianil, pendimethalin) on *Chironomus riparius* in aquatic ecosystems.

METHODS AND RESULTS: Chlorfluazuron, difenoconazole, dithianon, flufenoxuron, flutianil and pendimethalin were used as a model compounds, which have a sediment-associated potential (K_{oc}>3). Acute and chronic toxicity tests on *Chironomus riparius* were performed at six concentrations of each pesticide with four replicates of each based on OECD test guideline 235 and 218. The calculated 48-h EC_{50} values of chlorfluazuron, flutianil, pendimethalin, difenoconazole, dithianon and flufenoxuron were 6.72, 2.55, 2.27, 0.77, 0.30 and 0.11 mg/L, respectively. Flufenoxuron was the lowest 48-h EC_{50} value in this study. The No Observed Effective Concentration (NOEC) and the Lowest Observed Effect Concentration (LOEC) of flufenoxuron for *Chironomus riparius* in 28-days test were 30 and 60 μg/kg, respectively.

CONCLUSION: Pesticides of the sediment-associated have the potential effect for *Chironomus riparius* in aquatic ecosystems. Therefore, sediment toxicity assessment of these pesticides should be further investigated to evaluate the impact to benthic organisms.

Key words: *Chironomus riparius*, GLP, OECD, Pesticide, Sediment toxicity

서 론

작물보호를 위하여 사용하는 농약은 수계환경으로 노출되어 토양흡착계수 (log K_{oc})가 3 이상일 경우 토양입자에 흡착될 가능성이 높아 퇴적토에 축적 가능성이 있다(Zhou and Rowland, 1997). 퇴적토에서 서식하는 저서생물 중 *Chironomus riparius* (*C. riparius*)는 절지동물문 곤충류 파리목 깔따구과에 속하는 곤충으로, 난덩어리에서 부화 후 1령 유충기에는 플랑크톤성을 띄며 적당한 서식처를 찾으면 저서성이 되어 토양속 유기물을 섭취하며 이후 번데기가 되어 수면으로 떠올라 우화되어 성충이 되고, 물벼룩과 함께 곤충 및 어류의 주요한 피식자이다(Tiina, 2000). 따라서, 성충 전단계의 생애를 하천수 및 퇴적물 경계의 저서에서 생활하는 *C. riparius*는 OECD test guideline 235 (OECD, 2011) 및 218

*Corresponding author: Hee-Ra Chang
Phone: +82-41-540-9696; Fax: +82-41-540-9696;
E-mail: hrchang@hoseo.edu

(OECD, 2004)에서 퇴적토 독성을 평가하는 시험종으로 활용되고 있다.

수계 환경에서 농약노출에 따른 환경영향 평가에서 급성독성시험은 오염원의 특정 농도에 대한 지표종의 치사영향 확인이 가능하고, 만성독성시험은 치사에 이르는 농도보다 낮은 농도에서 만성적 영향을 조사하여 다양한 독성종말점(endpoint)에 대한 영향평가가 가능하다. 국외 연구에서 수계환경에 노출된 농약이 퇴적토에 축적되어 저서생물에 영향을 미칠 수 있으며, 수계 환경에 생물에 대한 독성으로 저서생물에 대한 독성을 예측할 수 있으므로, 퇴적토 환경 중 농약 노출에 따른 영향을 평가하기 위하여 토양 반감기 DT_{50} (50% degradation time)≥30day, 토양흡착계수 log K_{oc} (organic carbon-water partition coefficient)≥3, daphnia 48시간 급성독성시험 EC_{50} (50% effective concentration) <1 mg/L 또는 21일 만성독성시험 NOEC (no observed effect concentration)<0.1 mg/L인 농약을 대상으로 퇴적토 독성시험의 필요성을 제안하고 있다(Di Toro, 1991, Maund 등, 1997). 국내에서는 퇴적토에 흡착 및 잔류가능성이 있으면서, 물벼룩에 대한 EC_{50} 또는 NOEC가 낮은 농약에 대한 퇴적토 급성 및 만성독성평가에 대한 연구가 수행되고 있지 않다.

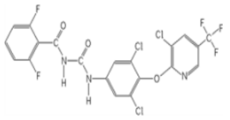
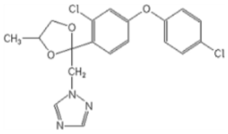
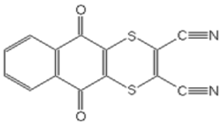
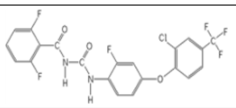
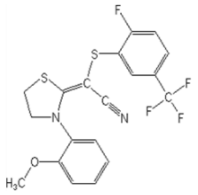
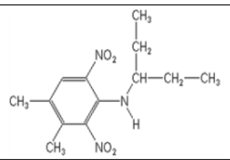
본 연구에서 수계환경 중 토양에 흡착, 잔류가능성 있고, 물벼룩 48시간 급성독성시험 EC_{50} (50% effective concentration) <1 mg/L 또는 21일 만성독성시험 NOEC (no observed effect concentration)<0.1 mg/L인 농약을 chlorfluazuron, difenoconazole, dithianon, flufenoxuron, flutianil 및 pendimethalin을 대상 농약으로 선정하여, OECD test guideline에 근거하여 *C. riparius*에 대한 급성 및 만성독성시험을 시험법을 확립하여 퇴적토 독성시험 영향평가를 수행하였다.

재료 및 방법

시험약제 및 시약

시험농약은 chlorfluazuron (순도 98.9%, Flukar, USA), difenoconazole (순도 99.5%, Chem Service, USA), dithianon (순도 99.5%, EPA Research Triangle Park, N.C., USA), flufenoxuron (순도 98.1%, Sigma-Aldrich, USA), flutianil (순도 98.0%, Wako, Japan), pendimethalin (순도 98.7%, Dr. Ehrenstorfer GmbH, Germany)였으며, 양

Table 1. Chemical structures and physico-chemical properties of test pesticides (Turner, 2015)

Common name	Chemical structure	MW[a)]	log Kow[b)]	log K_{oc}	Soil degradation DT_{50}	Aquatic invertebrates (Daphnia) (mg/L)
chlorfluazuron		540.7	5.9	4.6	6 weeks-few months	Acute 48h LC_{50} 0.000908
difenoconazole		406.3	4.4	3.8	3 months-1 year	Acute 48h EC_{50} 0.77
dithianon		296.3	3.2	3.1	2.6–37.6 day	Acute 48h EC_{50} 0.26
flufenoxuron		488.8	4.0	3.6	42 day	Acute 48h EC_{50} 0.00004
flutianil		426.5	2.9	3.0	297.3 day[c)]	Chronic 21d NOEC 0.007[c)]
pendimethalin		281.3	5.2	4.2	3–4 months	Acute 48h EC_{50} 0.28

a) Octanol-water partition coefficient
b) Organic carbon-water partition coefficient, Calculate K_{oc} from Kow (Hemond H. F. and E. J. Fechner, 2000)
c) EU Regulatory & Evaluation Data as published by EC Verified data used for regulatory purposes (PPDB, 2017)

Table 2. Test conditions of acute and chronic test for *Chironomus riparius*

Parameters	Conditions
Cage	30×30×30 cm
Temperature	20±2℃
Photo period	16 hour light, 8 hours dark
Quantity of light	700～800 Lux
Dilution water	M4 medium
Culture soil	quartz sand
Feeding	fish flake food Tetra Min®, 250 mg/cage/day
pH	6～9
DO	at least 60% of the air saturation value
Hardness	190～220 mg/L as $CaCO_3$

성대조물질은 lindane (순도 99.5%, Sigma-Aldrich, USA)을 사용하였다(Table 1). Acetone (Merck, Germany)은 HPLC급을 사용하였고, 사육 및 시험에 사용한 M4배지 시약은 OECD test guideline 235에 기재된 시약을 Cell culture medium 및 ACS reagent를 Sigma-Aldrich (USA)와 Merck (Germany)에서 구입하여 조제한 후 사용하였다.

시험생물 및 사육환경

시험생물인 깔따구(*C. riparius*)는 서울시립대학교에서 분양받아, 계대 사육하여 사육수조의 벽 표면에 붙은 난덩어리를 채집하여 부화시킨 1령기 유충을 사용하였다. 시험생물의 순화 및 번식은 OECD test guideline 218 및 235 에 근거하여 수행하였다(Table 2). 사육수는 환수 전 M4배지의 pH, 용존산소 및 경도를 확인하였으며, 사육수의 수질은 주1회 pH 및 용존산소를 측정하여 확인하였다.

양성대조시험

시험환경 및 방법에 대한 신뢰성 확보를 위한 수단으로 OECD TG 235 및 218에서 제시하는 양성대조군 시험물질인 lindane을 선정하여 급성 및 만성독성시험을 수행하였다. 급성시험은 0.008, 0.016, 0.032, 0.063, 0.125, 0.25 및 0.5 mg/L 수준의 처리구와 대조구(M4 배지) 및 용매대조구(acetone)에서 시험을 수행하였고, 만성시험은 2.82, 5.63, 11.25, 22.5 및 45.0 ㎍/kg 수준의 처리구와 대조구(M4 배지) 및 용매대조구 (acetone)에서 시험을 수행하였다. 시험결과의 신뢰성은 국외 연구에서 산출된 독성값의 평균 ± 2SD (standard deviation)를 95% 신뢰범위로 설정하여 확인하였다(Moser H. and J. Römbke, 2009).

깔따구(*C. riparius*) 급성독성시험

깔따구(*C. riparius*)에 대한 48시간 급성독성시험은 OECD test guideline 235 에 근거하여 1령기 유충을 사용하였으며, 시험용수는 M4배지를 사용하였다. 시험기간 동안 pH 6～9, 온도 19～20℃, 광조건 16시간, 암조건 8시간 및 조도 600～800 Lux을 유지하였다.

시험농도는 농도설정 예비실험 결과에 근거하여, chlorfluazuron은 0.63, 1.25, 2.5, 5, 10 및 20 mg/L, difenoconazole은 0.094, 0.188, 0.375, 0.75, 1.5 및 3 mg/L, dithianon은 0.031, 0.063, 0.125, 0.25, 0.5 및 1 mg/L, flufenoxuron은 0.016, 0.031, 0.063, 0.125, 0.25 및 0.5 mg/L, flutianil은 0.63, 1.25, 2.5, 5, 10 및 20 mg/L, pendimethalin은 0.16, 0.31, 0.63, 1.25, 2.5 및 5 mg/L로 설정하였으며, 대조군(M4 배지) 및 용매대조군(acetone)을 두었다.

시험용기에 각 농도별로 4반복구를 두고 시험용액 100 mL에 5마리의 시험생물을 노출시켜 지수식으로 시험을 수행하였다. 노출 후, 24시간 및 48시간에 유영저해 개체를 확인하였다. 최종적으로 24시간 및 48시간의 50% Effected concentration (EC_{50}) 및 95% 신뢰한계를 EPA probit analysis program (version 1.5)을 사용하여 산출하였다.

깔따구(*C. riparius*) 만성독성시험

깔따구(*C. riparius*) 급성독성시험에서 낮은 EC_{50} 값이 산출된 flufenoxuron 에 대한 28일 만성독성시험은 OECD test guideline 218에 근거하여 1령기 유충을 사용하였으며, 시험용수는 M4배지, 시험토양은 인공퇴적토를 조제한 후 사용하였다. 인공퇴적토는 이탄 313 g과 탈이온수 3 L를 혼합하여 2일간 안정화한 후, 상층수를 제거한 건고물에 고령토 1252 g, 석영사 4687.6 g, CaCO3 3.1 g을 혼합하여 7일간 안정화하였다. 최종적으로, 2일간 실온에서 수분을 제거한 후 시험에 적용하기 전까지 보관하여 사용하였다.

시험기간 동안 pH 6～9, 온도 19～20℃, 광조건 16시간, 암조건 8시간 및 조도 600～800 Lux을 유지하였다. 시험기간 동안 먹이공급은 마리당 노출 후 10일까지는 0.5 mg/day, 노출 후 11일에서 시험 종료일까지는 1.0 mg/day로 산출하여 분쇄한 Tetra Min® (Tetra, USA)을 1일 1회 공급하였다.

시험농도는 급성독성시험 결과에 근거하여 0, 30, 60, 80, 100 및 150 μg/kg로 설정하였으며, 대조군(M4 배지) 및 용매대조군(acetone)을 두었다.

시험용기에 각 농도별로 4반복구를 두어 10 g 석영사를

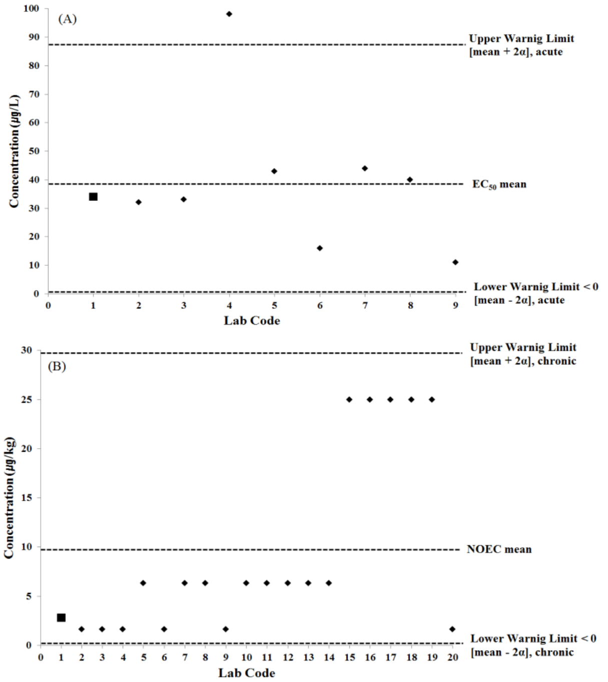


Fig. 1. EC_{50} and NOEC evaluation of boric acid for sediment toxicity tests with *Chironomus riparius* ((A) acute EC_{50}, (B) chronic NOEC).

넣은 후, 시험물질용액을 처리하였고, 조제된 인공퇴적토 70 g을 넣어 혼합하였다. 추가적으로, M4배지 320 mL을 첨가하여 7일간 안정화 한후, 각 처리구의 반복구당 20마리의 시험생물을 노출시켜 지수식으로 시험을 수행하였다. 성충의 우화확인은 노출 후 10일부터 28일까지 1일 1회 확인하였다. 출현율(ER)은 시험 종료 후 우화수를 기준으로 하여 (1)식으로 산출되며, ne는 시험용기 당 출현한 깔따구 성충수이고, na는 시험용기 당 시험에 사용된 유충수이다. 평균 발생율 ($\bar{x}$)은 (2)식으로 산출되며, i는 관찰간격지수, m은 최대 관찰간격수, f_i는 관찰간격 i에서 출현한 성충의 수, n_e는 시험종료시에 출현한 총 성충수, day_i는 시험시작 시점으로부터 관찰일이며, l_i는 관찰간격 i의 기간(일 단위, 보통 1일)이다.

$$ER = ne \ / \ na \qquad (1)$$

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^{m} \frac{f_i \left[\frac{1}{\left(day_i - \frac{l_i}{2}\right)}\right]}{n_e} \qquad (2)$$

EC_{50} 및 95% 신뢰한계는 EPA probit analysis program (version 1.5)을 사용하여 산출하였고, NOEC 및 LOEC는 ANOVA (Dunnett's) analysis 방법을 사용하여 0.05의 유의수준(α)에서 대조군과 농도군의 통계적 유의성을 확인하여 산출하였다.

결과 및 고찰

양성대조시험

양성대조 시험물질 lindane의 깔따구(*C. riparius*) 급성시험의 EC_{50}은 0.034 (0.025∼0.045) mg/L, 만성시험에서 출현율을 기준으로 NOEC는 2.82 μg/kg이었으며, lindane의 EC_{50} 및 NOEC 국외 연구결과값들의 평균 ±2SD를 95% 신뢰범위로 설정하여 연구결과값으로부터 시험방법의 신뢰성을 확인하였다. 급성시험은 Weltje 등(2009)의 연구에서 lindane 48h-EC_{50} 결과값(Lab code 2∼9)의 평균은 39.0 μg/L였으며, 만성시험은 Streloke와 Köpp (1995)의 연구에서 NOEC 결과값(Lab code 2∼20)의 평균은 9.4 μg/kg로 본 연구의 결과값(Lab code 1)이 95% 신뢰범위 이내였다(Fig. 1).

급성독성시험

Chlorfluazuron, flutianil, pendimethalin, difenoconazole, dithianon 및 flufenoxuron의 깔따구(*C. riparius*) 급성시

Table 3. EC_{50} and EC_{50} ratio of pesticides for *Chironomus ripairus*

Pesticide	Exposed period	EC_{50}, mg/L (95% C.L.)[a]	24 h-EC_{50}/48 h-EC_{50}
chlorfluazuron	24 h	14.50 (10.94∼22.53)	2.16
	48 h	6.72 (5.38∼8.43)	
difenoconazole	24 h	1.52 (1.16∼2.13)	1.99
	48 h	0.77 (0.58∼1.02)	
dithianon	24 h	0.44 (0.33∼0.62)	1.48
	48 h	0.30 (0.23∼0.38)	
flufenoxuron	24 h	0.42 (0.30∼0.63)	3.90
	48 h	0.11 (0.073∼0.15)	
flutianil	24 h	5.90 (4.08∼9.23)	2.32
	48 h	2.55 (1.83∼3.46)	
pendimethalin	24 h	8.85 (4.73∼68.38)	3.90
	48 h	2.27 (1.75∼3.11)	

[a] Confidence Limits

Table 4. Effects of flufenoxuron on emergence and development of *Chironomus riparius* for 28 days

Concentration (mg/kg)		Emergence (%)		Development ratio (day^{-1})	
		Replication	Average±SD[a)]	Replication	Average±SD
Control	1	80	85±0.04	0.0482	0.0458±0.002
	2	85		0.0454	
	3	90		0.0447	
	4	85		0.0447	
Solvent control	1	85	81±0.05	0.0463	0.0454±0.001
	2	80		0.0446	
	3	75		0.0455	
	4	85		0.0452	
0.03	1	90	78±0.10	0.0448	0.0445±0.001
	2	75		0.0441	
	3	80		0.0441	
	4	65		0.0451	
0.06[b)]	1	70	60±0.08	0.0439	0.0431±0.001
	2	60		0.0421	
	3	50		0.0422	
	4	60		0.0440	
0.08[b)]	1	35	34±0.03	0.0413	0.0422±0.001
	2	30		0.0412	
	3	35		0.0420	
	4	35		0.0443	
0.10[b)]	1	25	19±0.05	0.0404	0.0414±0.001
	2	15		0.0415	
	3	20		0.0411	
	4	15		0.0427	
0.15[b)]	1	10	10±0.04	0.0409	0.0407±0.002
	2	10		0.0386	
	3	5		0.0408	
	4	15		0.0423	

[a)] Standard deviation
[b)] The mean for this concentration is significantly less than the control mean at alpha=0.05 (1-sided) by Dunnett's test

험 48h-EC_{50}은 6.72, 2.55, 2.27, 0.77, 0.30 and 0.11 mg/L으로 flufenoxuron의 독성이 가장 높게 나타났다(Table 3). 24h-EC_{50} 및 48h-EC_{50} 비율은 1.48~3.90으로 48시간 경과 후에서 독성이 높게 나타났으며, flufenoxuron이 3.90으로 가장 높았다. 깔따구(*C. riparius*)에 대한 시험약제의 독성 영향은 육안으로 고농도의 처리군에서 처리 직후에 몸을 비틀며 불규칙한 운동을 하였으며, 24시간 경과 후 개체의 체색이 검붉어지고 몸을 C형태로 만들어 활동성이 거의 없었으며, 치사개체는 48시간 경과 후 몸이 직선 형태로 되어 체색이 진갈색이 되는 것을 확인하였고, 이러한 영향은 Kim 등 (2009)의 연구 결과와도 유사하였다.

만성독성시험

깔따구(*C. riparius*)의 급성독성시험에서 독성이 가장 높은 flufenoxuron의 만성독성 시험 결과에서 출현율은 대조군 및 용매 대조군에서 각각 85% 및 81%로 각각의 대조군

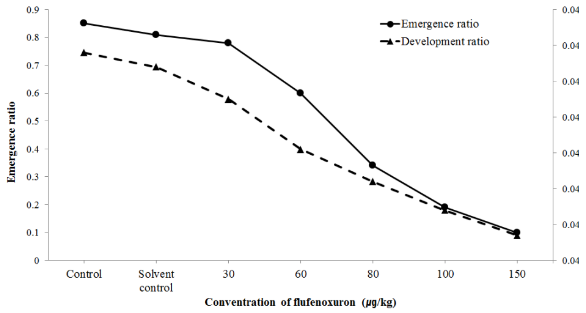


Fig. 2. Relationship between Emergence, dvelopment ratio and test concentration for flufenoxuron during 28 days.

이 70%이상을 만족하여 시험의 유의성이 검증되었으며, 0.03, 0.06, 0.08, 0.10 및 0.15 mg/kg 수준의 처리군에서의 출현율은 각각 78%, 60%, 34%, 19%및 10%로 산출되었고, 발생율은 대조군 및 용매 대조군에서 각각 0.0458/day 및 0.0454/day이었으며, 0.03, 0.06, 0.08, 0.10 및 0.15 mg/kg 수준의 처리군에서는 각각 0.0445/day, 0.0431/day, 0.0422/day, 0.0414/day 및 0.0406/day였으며, 출현율 및 발생율을 기준으로 산출된 28d-NOEC은 0.03 mg/kg, 28d-LOEC은 0.06 mg/kg 였다(Table 4).

Flufenoxuron의 깔따구(*C. riparius*) 만성독성시험에서 농도가 높아질수록 우화시기에 영향을 받아 우화시기가 낮아져서, 출현율 및 발생율이 0.03∼0.08 mg/kg의 농도범위에서 급격히 낮아지고(Fig. 2), 최고농도 처리군(0.15 mg/kg)에서 우화된 개체가 대조군의 개체보다 몸집이 작은 것을 육안으로 확인하였다.

Flufenoxuron의 수생생물에 대한 만성독성시험 영향은 국외 연구에서 어류(*Danio rerio*) 및 갑각류(*Daphnia magna*)의 NOEC는 각각>0.0012 mg/L 및 0.0001 mg/L였으며, 본 연구의 깔따구(*C. riparius*)의 NOEC는 0.03 mg/kg 으로, UN의 GHS (Global Harmonized System of classification and labelling of chemicals)에 따른 수생생물의 만성적 독성 영향 기준과 비교시 NOEC<0.1 mg/kg로 chronic 1로 분류되어 수생생물에게 만성적으로 영향이 높은 물질로 분류될 수 있다(ECHA, 2011, UN, 2011)

본 연구에서 저서생물인 깔따구(*C. riparius*)의 28d-NOEC는 어류(*Danio rerio*) 및 갑각류(*Daphnia magna*)의 NOEC와 비교하여 각각 25배 및 3000배 낮지만, NOEC<0.1 mg/kg로 낮은 농도에서 만성적인 영향이 있는 것을 확인하였다. 특히 저니토는 어류 및 갑각류의 서식지인 수체보다 시간적 변화가 적어 지속적으로 오염물질이 잔류하여 영향을 줄 수 있으며, 수체로의 용출 및 하천 범람 등을 통한 오염된 퇴적토의 직접유출로 주변 환경을 오염시킬 수 있다. 결론적으로, 수계환경 중 토양에 흡착되거나 잔류 가능성이 높으면서, 수계환경에 서식하는 물벼룩 48시간 급성독성시험 EC_{50} (50% effective concentration)<1 mg/L 또는 21일 만성독성시험 NOEC (no observed effect concentration)<0.1 mg/L인 농약에 대하여 저서생물에 이용한 퇴적토 독성시험을 수행하여 퇴적토를 포함한 수계환경에 대한 만성적 영향평가가 이루어져야 한다.

Acknowledgement

This study was supported by KEITI (Korea Environmental Industry & Technology Institute), Republic of Korea (Project No. 2014001370007).

References

European chemicals agency (2011). Background document to the Opinion proposing harmonised classification and labelling at Community level of flufenoxuron, ECHA/RAC/CLH-O-0000001741-79-01/A1.

Hemond, H. F., & Fechner, E. J. (2000). Chemical Fate and Transport in the Environment, p. 275, second ed. Academic Press, USA.

Kim, B. S., Park, Y. K., Hong, S. S., Yang, Y. J., Park, K. H., Joeng, M. H., Kim, S. R., Park, K. H., Yeh, W. H., Kim, D. H., Hong, M. K., Ahn, Y. J., & Shin, J. S. (2009). Comparison of acute toxicity of molinate on two aquatic lnsects, *Chironomus riparius* and *Cloeon dipterum* in different larval stages. The Korean Journal of Pesticide Science, 13(4), 256-261.

Maund, S., Barber, I., Dulka, J., Gonzalez-Valero, J., Hamer, M., Heimbach, F., Marshall, M., McCahon, P., Staudenmaier, H., & Wustner, D. (1997). Development and evaluation of triggers for sediment toxicity testing of pesticides with benthic macroinvertebrates. Environmental toxicology and chemistry, 16(12), 2590-2596.

Moser, H. & Römbke, J. (2009). Ecotoxicological Characterization of Waste: Results and Experiences of an International Ring Test. pp. 73-75, Springer Science & Business Media, Germany.

OECD (2004). Sediment-Water Chironomid Toxicity Test Using Spiked Sediment, OECD guidelines for the testing of chemicals. No. 218.

OECD (2011). Chironomus sp., Acute Immobilisation Test, OECD guidelines for the testing of chemicals. No. 235.

Ristola, T. (2000). *Assessment of sediment toxicity using the midge Chironomus riparius (Diptera: Chironomidae)*, pp. 7-9, 5th ed. University of Joensuu, Finland.

Streloke, M., & Köpp, H. (1995). Long-term toxicity test with *Chironomus riparius*: development and validation of a new test system, pp. 49-53, Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, No. 315, Wiley-Blackwell, Germany.

Toro, D. M. D., Hansen, D. J., Berry, W. J., Swartz, R. C., Cowan, C. E., Pavlou, S. P., Allen, H. E., Thomas, N. A., & Paquin, P. R. (1991). Technical basis for examining sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals using equilibrium partitioning. Environmental Toxicology and Chemistry, 10, 1541-1586.

Turner, J. A. (2015). *The Pesticide Manual*, pp. 182-849, 17th ed. British Crop Production Council, UK.

United Nations. Economic Commission for Europe. Secretariat. (2009). *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS).* ST/SG/AC.10/30/Rev.4, p. 223, United Nations Publications.

Weltje, L., Rufli, H., Heimbach, F., Wheeler, J., Vervliet-Scheebaum, M., & Hamer, M. (2010). The chironomid acute toxicity test: development of a new test system. Integrated environmental assessment and management, 6(2), 301-307.

Zhou, J. L., & Rowland, S. J. (1997). Evaluation of the interactions between hydrophobic organic pollutants and suspended particles in estuarine waters, Water Research, 31(7), 1708-1718.