

Diazinon과 Carbofuran의 송사리 (*Oryzias latipes*)와 미꾸리 (*Misgurnus anguillicaudatus*)에 대한 선택적 독성과 Acetylcholinesterase저해

김영배*, 이성규*, 김용화*, 노정구*

Selective Toxicity and Acetylcholinesterase Inhibition of Diazinon and Carbofuran to Killifish (*Oryzias latipes*) and Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)

Young-Bae Kim*, Sung-Kyu Lee*, Yong-Hwa Kim*, Jung-Koo Roh*

Abstract

This study was initiated to understand the mechanism of selective toxicity of diazinon and carbofuran to killifish and loach.

Conventional LC50 was calculated from fish test. IC50 with acetylcholinesterase activity was estimated using whole body and wet brain homogenate of the two fish species.

Acetylcholinesterase activity of killifish was approximately twice as high as that of loach. The selective toxicity of diazinon to killifish and loach was partly (14 : 4) explained by the IC50 of diazoxon, a toxic metabolite of diazinon. IC50 of carbofuran also partly (14 : 3.4) contributed to the selectivity.

These result suggested that the enzymatic method might be utilized as a screening tool for the chemicals affecting fish species of environmental concern with certain limitations which should be overcome in future studies.

서 론

농약에 대한 담수어류의 어종간 선택독성이 1976년 강과 신⁽¹⁾에 의하여 연구된 바 있는데, diazinon, carbofuran, endosulfan을 대상 농약으로 하여 잉어와 미꾸리의 급성독성이 농약에 따라 10~20배 차이가 있음을 관찰하였고, 특히 diazinon 과 carbofuran은 대조적인 농약들로서 잉어는 미꾸리보다 diazinon에 저항성(20배 이상)이며 미꾸리는 잉어보다 carbofuran에 저항성(8배)이 있음을 나타내었다.

이것으로 수도작에서 관행적인 diazinon 살포에 의해서는 미꾸리의 생육이 불가능하며, carbofuran의 살포에 의해서는 잉어의 생육이 불가능함을 시사한 바 있다. 이러한 현상은 본 연구가 진행중인 1986년 양동⁽²⁾에 의하여 재확인되었다. 즉 IBP와 fenitrothion의 LC50은 잉어와 미꾸리가 유사하였으나 diazinon과 carbofuran의 LC50은 잉어와 미꾸리에서의 독성 저항성이 정반대인 것으로 나타났다.

이 사실은 농약을 포함한 화학물질의 환경영향을 평가하는 독성실험체제가 실제 환경에서의 영향을 예측

* 한국화학연구소 안전성연구센터 (Toxicology Center, Korea, Institute of Chemical Technology, Daedeog-dangi, Daejeon. Chungnam)

하는데 문제가 있음을 시사한다. 즉 1개 어종의 급성독성실험에 의하여 사용이 승인된 화학물질이 선택적 어독성으로 인하여 다른 어종에는 치명적인 영향을 준다면 이는 환경 생태계의 균형을 인위적으로 깨뜨리게 되므로 간과되어서는 안될 것이다. 특히 영향을 받는 어종이 그 환경에서 서식밀도가 높거나 식용등으로 인하여 경제적 의의를 갖는 경우에는 무시되어서는 안될 것이다.

이러한 의미에서 환경생물에 대한 화학물질의 영향 평가에 있어서는 실험대상 어류를 다양화할 필요성이 있으나, 수많은 화합물을 개발하는 단계에서 많은 어종에 대하여 독성을 일일이 평가한다는 것은 막대한 노력과 시간이 요구되므로 예비적으로 검색하는 방법을 통하여 환경에서 문제를 일으킬 가능성이 있는 화합물들 사전에 검색하는 체계가 필요하다.

그러므로 본 연구에서는 이러한 관행적인 농약의 어독성 평가방법의 제한점을 보완하기 위한 방법의 하나로써 생화학적인 예비 검색 체계의 가능성을 타진하고자 하였다.

급성어독성과 생화학적인 지표들-흡수·배설, 대사, 효소저해-과의 상관성에 관하여는 각기 다른 화합물과 다른 어종을 가지고 많은 연구가 되어왔고 특히 살충제에 대하여는 상당한 연구가 진행되어 있다.⁽³⁾

이중에서 유기인계 및 카바메이트계 살충제의 주요한 중독작용 기작은 acetylcholinesterase의 저해로 알려져 있다.⁽⁴⁾ 그러나 동일 화합물에 대한 어종간의 급성독성의 차이가 acetylcholinesterase의 저해도와 직접적인 상관관계가 있다는 보고는 드물고, Seguchi와 Asaka, Fujii와 Asaka의 보고^(5,6)와 같이 흡수, 체내축적 및 배설의 차이와 대사경로의 차이등에 기인한다는 보고가 있다. 그러므로 diazinon과 carbofuran이 잉어와 미꾸리

나타낸 급성독성을 acetylcholinesterase 저해도에 기인한다고 단정하기는 아직 어려운 상태이다.

그러므로 본 연구에서는 diazinon과 carbofuran의 선택적 어독성에 acetylcholinesterase 저해도가 기여하는 정도를 알아보고자 하였으며 이로써 급성독성 예측방법으로서 제한적이나마 생화학적 방법이 사용될 수 있는지의 가능성을 고찰해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 급성 어독성실험

가. 공시어류

본 실험에 사용한 어류는 일본산 송사리(Killifish : *Oryzias latipes*)와 미꾸리(Loach : *Misgurnus anguillicaudatus*)로 송사리는 수온 23C-24C, 광주조건 14시간 암조건 10시간의 사육실에서 계대사육중인 개체중에서 선발하였고, 미꾸리는 시장에서 구입하여 본 연구실의 사육실 조건에서 15일 이상 순화시킨 후 사용하였으며, 공시어류는 두어종 공히 실험시작 24시간전에 절식시켰다. 잉어대신 송사리를 공시한 이유는 급성독성값이 비슷하고⁽²⁾ 본 연구실에서 사육하고 있으므로 균질한 개체를 쉽게 구할 수 있기 때문이었다. 공시농약별 공시어류의 크기와 공시어 수는 표1과 같다.

나. 공시농약

Diazinon(0,0-diethyl 0-[6-methyl-2-(1-methylethyl)-4-pyrimidinyl]phosphorothioate : CA)은 H 농약회사에서 원제(95.4%)를 분양 받았고, carbofuran(2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methylcarbamate : CA)은 D 농약회사에서 원제(75.0%)를 분양받아 사용하였다. 시

Table 1. Size of test organisms and test conditions

Chemical	Species	Test organism			Test condition		
		Total length (cm)	Body wt. (g)	No of organism in each concentration	DO (mg/l)	pH	Temp. (°C)
Dia-zinon	Killifish	2.76±0.04*	0.16±0.03	10	7.09±0.83	7.23±0.08	22.4±0.37
	Loach	6.82±0.62	1.02±0.24	5	7.09±0.83	7.23±0.08	22.4±0.37
Carbo-furan	Killifish	2.94±0.23	0.2±0.05	10	7.2±0.51	7.08±0.05	22.3±0.39
	Loach	6.95±0.61	0.99±0.40	5	6.67±0.83	7.04±0.08	22.4±0.37

* Mean±Standard deviation

험용액의 조제는 diazinon은 원제를 DMSO에 녹인 후 계면활성제인 HCO-40(일광 Chemical : 일본)을 1-2방울 가하여 분산시켜 농도별로 일정량씩 투여하였고, carbofuran은 증류수에 녹여 농도별로 투여하였다. 처리 농도는 예비실험을 통하여 독성정도를 파악한 후 대수 등간격으로 분포시켰다.

다. 실험방법

회석수는 수도물을 membrane filter와 활성탄으로 2중 처리하였으며, 수온은 23°C-24°C를 유지시켰다. 실험에 사용된 수조는 5 L 용량의 유리제 원통형이었으며 실험기간중에는 물을 갈아주지 않았다(static condition). 실험조건을 알기 위하여 수조내 용존산소 농도, 수온 및 pH를 각 수조별로 매일 DO meter (YSI Model 57)와 Solution Analyzer(Cole-Parmer 5800-05)로 측정 한 바 그 결과는 표 1과 같다. 실험기간 동안 광주기는 광조건 14시간, 암조건 10시간을 유지하였고, 먹이는 공급하지 않았다. 급성독성값을 구하기 위하여 처리후 1, 3, 12, 24, 48, 72, 96시간 마다 관찰하여 공시어가 아가미 호흡이 중지된 것을 치사한 것으로 간주하였고, 확인 후 곧 수조에서 제거하였다. 48시간 및 96시간 LC50값과 95% 신뢰한계를 구하기 위한 자료의 처리는 probit법에 의하였다.

2. Acetylcholinesterase(AchE)의 활성 측정

가. 재 료

(1) 시 약

사용된 diazinon과 diazoxon은 분석용 시약으로 U.S. EPA (Research Triangle Park, NC)에서 공급받았으며 정제없이 그대로 사용하였다. 명시된 순도는 diazinon과 diazoxon 각각 99.4% 95%였다. Carbofuran은 FMC Corp. 에서 원제를 공급받았으며 순도는 95.6%였다.

Acetylthiocholine iodide와 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB)는 Sigma회사 제품을 구입하여 사용하였다. Phosphate buffer와 Tris buffer는 일반적인 생화학적 실험방법을 사용하여 조제하였다.

(2) 공시어류

송사리와 미꾸리는 앞의 급성어독성 실험에서 사용한 공시어류와 동일한 군의 개체를 사용하였다.

(3) 광시용액 조제

Diazinon은 김등⁽⁷⁾이 수용성 측정을 위하여 조제한 포화 수용액(45 ppm)을 원액으로 하고 이를 희석하여

사용하였고, diazoxon은 증류수에 용해시켜 100ppm을 조제하여 원액으로 한 후 증류수로 희석하여 반응용액을 얻었다. Carbofuran은 acetone에 용해하여 100ppm으로 조제한 후에 증류수로 희석하여 반응용액을 만들었다. 이러한 상이한 용액조제방법은 효소반응이 용매에 의하여 영향을 받으므로 이러한 영향을 극소화 하면서 IC50 값(효소활성을 50%저해하는 화합물의 농도)을 얻을 수 있기 위한 것이었다.

나. 실험방법

효소활성 및 IC50에 관한 실험방법은 주로 Wang과 Murphy⁽⁸⁾의 방법에 준하였고 Ellman 등⁽⁹⁾과 Benke 등⁽¹⁰⁾의 방법을 참고로 하였다.

(1) Enzyme 용액조제

Whole body enzyme의 경우는 시료를 여과지 위에서 수분을 제거하고 무게를 달아 3g 정도로 맞춘후 가위로 잘라 얼음에 담가둔 0.32 M sucrose용액 10ml를 가해 glass homogenizer로 균등액을 만들어 사용하였다. Brain enzyme은 시료의 뇌만을 분리해 dry ice에서 얼린 후 0.32M sucrose용액으로 씻어내고 무게를 달아 0.04g 정도로 맞추어서 0.32 M sucrose 용액 10ml를 가해 glass homogenizer로 균등액을 만들었다. 각 균등액들을 4°C, 2,500 rpm(1,000 x g)에서 20분간 원심분리 한 후 상정액만을 취하고 침전물은 위와 동일한 방법으로 2번 씻어 주었다. 모아진 상정액을 4°C 35,000 rpm(100,000x g)에서 1시간 동안 원심분리 시켜 상정액은 버리고 침전물에 0.32 M sucrose를 함유한 30 mM phosphate buffer(pH 7.4)를 whole body enzyme일 경우는 10ml, brain enzyme일 경우에는 5ml로 용해시켜 vial에 2ml씩 담아 -80°C에서 보관하였다.

(2) AchE 활성 측정

먼저 준비된 enzyme 용액을 0, 20, 40, 60, 80μl 씩 시험관에 주입하고 30mM phosphate buffer(pH 7.4)로 400 μl되게 부피를 맞추어 27°C water bath에 30분간 방치하였다. 그후 1mM acetylcholine과 1mM DTNB를 함유한 30mM phosphate buffer용액 4.6ml를 각각에 가한 후 Spectrophotometer (Shimatzu, Model. UV-265)로 412 nm에서 시료의 흡광도를 측정하였다. 계산 방법은 Ellman등의 방법⁽⁹⁾에 의하였다.

(3) IC50값 측정

(1)에서 조제된 효소용액 5ml로서 흡광도가 0.8정도가 되도록 희석된 enzyme용액 200μl에 적정농도의 공시농약용액 200μl를 가해 27°C water bath에서 30분간

방치시켰다. 여기에 1mM DTNB와 1mM acetylthiocholine을 녹인 30mM sodium phosphate buffer (pH 7.4) 4.6 ml를 가해 회색하여 412nm에서 흡광도를 구하였다. IC 50값은 대조군 효소활성에 대한 잔류 효소활성의 백분율과 공시농약의 농도를 대수치로 하는 반대수 그림표에 표시하여 여기서 50%의 활성이 저해되는 농도를 구하여 IC50값으로 하였다. 이때 50%를 기준으로 3개 이상의 점에 의하여 회귀선이 구하여졌으며, 저농도나 고농도에서 plateau가 나타날 때에는 보다 저농도나 보다 고농도를 제거한 회귀선을 택하였다.

결과 및 고찰

1. Diazinon과 carbofuran의 급성어독성

Diazinon과 carbofuran의 송사리와 미꾸리에 대한 48시간 및 96시간 급성 독성값과 95% 신뢰한계는 다음 표 2와 같다.

Diazinon은 송사리보다 미꾸리에 대해 약 14배 이상 독성이 강하게 나타났으며, 이는 양등⁽²⁾의 결과인 약 74배에는 미치지 못하나 두 어종의 diazinon에 대한 민감도의 차이는 재확인할 수 있었다. 그러나 carbofuran의 경우는 diazinon과 반대로 송사리에 대한 독성이 미꾸

리보다 약 14배 크게 나타나 양등⁽²⁾의 결과와 거의 일치하였다. 따라서 두 농약의 송사리와 미꾸리에 대한 독성은 두 농약의 작용기작이 신경계 저해작용이라는 공통점⁽¹¹⁾에도 불구하고 정반대의 경향을 보이고 있어 두 어종 자체의 대사기작의 차이에 기인하지 않나 생각된다. 또 한가지 특징적인 것은 일반적인 독성의 발현이 노출시간이 증가함에 따라 커지는데^(12,13) 송사리의 경우는 이에 합치하나 미꾸리의 경우는 이와 달리 48시간 급성 어독성값과 96시간 급성어독성값이 동일하였다.

2. 송사리 및 미꾸리의 AchE 활성

공시된 어종인 송사리 및 미꾸리의 AchE 활성을 측정 한 결과(표3), 송사리에서의 효소활성이 미꾸리보다는 높은 것으로 나타났고 예상된 바대로 뇌 중 AchE 활성이 어체의 평균치보다 20배 가량 높은 것으로 나타났다. 송사리 뇌 중 AchE 활성은 Wang 과 Murphy⁽⁸⁾에 의하여 관찰된 메기류 보다는 3배 낮고 미꾸리 뇌중의 AchE 활성은 메기류보다 6배 낮았다. 그러므로 뇌 시료로 실험하는 것이 효소시료 조제에 편리하며 명확한 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 표4에서와 같이 어체 전체의 총 활성도가 뇌의 AchE 활성도보다 높고, 또 Kanazawa⁽¹⁴⁾의 보고와 같이 급성독성의 발현이 뇌에서의

Table 2. Acute toxicities and confidence intervals of diazinon and carbofuran to killifish and loach.

Chemical	Species	48-h LC50 (mg/l)	96-h LC50 (mg/l)	95% confidence interval(mg/l)
Diazinon	Killifish	4.20	3.91	48h : 3.01 - 5.88 96h : 2.85 - 5.45
	Loach	0.27	0.27	48,96h : 0.15 - 0.53
Carbofuran	Killifish	0.94	0.84	48h : 0.72 - 1.22 96h : 0.65 - 1.09
	Loach	12.0	12.0	48,96h : 7.30 - 19.5

Table 3. Acetylcholinesterase activities^a of whole body and wet brain homogenates of killifish and loach

Enzyme source	Killifish	Loach
Whole body	392 ± 137 ^b (35%) (n=6) ^c	157 ± 55 (35%) (n=5) ^c
Brain	8865 ± 103 (n=1) ^d	4802 ± 444 (n=1) ^d

a. n mol/min/g
 b. mean ± S. D.
 c. replicates with different groups of fish from July 1987 to May 1988
 d. triplicate analysis with one group of fish

Table 4. Weight, AchE activity, and total AchE activity ratio of killifish and loach

Species	Weight ratio ^a	Activity ratio	Total activity ratio
Killifish	25	0.044	1.11
Loach	82	0.033	2.7

a. all ratio in the table was expressed as the ratio of whole body/wet brain.

AchE 저해작용외에 심장순환계와 호흡조직에서의 작용 방해와 피부흡수에 의한 근육에서의 작용 등에 비롯될 수 있다는 사실에 근거하여, 본 연구에서는 어체 전부에 대한 효소활성과 저해도에 대하여 중점적으로 실험하였다.

그런데 두 어종의 어체 전부에 대한 AchE 활성도는 표3에 나타난 바와 같이 1년에 걸쳐 여러 집단 물고기 시료를 사용함에 따라 약 35%의 상대적인 표준편차를 나타내고 있다. 이 수치는 동일 집단 어류를 동시에 실험할때 생기는 뇌 중 AchE 활성도 측정치의 편차인 10% 이하에 비하여 상당히 큰 것이다. 따라서 Coppage⁽¹⁵⁾가 지적한 바대로 정상적인 AchE 활성도를 구하기 위해서는 1년간에 걸쳐 어류시료를 채취하여 실험하는 것이 바람직하다는 결론을 뒷받침하고 있다.

따라서 AchE 활성에 관한 실험의 재현성을 높이기 위해서는 장기간에 걸쳐 시료를 채집하여 균질화한 뒤에 저장하여 이를 실험에 제공하는 것도 하나의 방법이라 생각된다.

3. Diazinon 및 diazoxon 과 carbofuran에 의한 AchE 의 저해

대상농약인 diazinon에 의한 AchE의 저해도를 실험하였으나 포화수용액의 한도인 2ppm(실제 수용성은 약 50ppm 이지만 효소용액이 200 μ l 로 첨가되고 5ml로 총 부피를 맞추게 되므로)에서 50% 저해가 나타나지 않았다(그림1). 따라서 diazinon의 AchE 저해도는 diazinon의 생체 대사산물이며 diazinon독성의 주원인으로 알려진 diazoxon을 사용하여 측정하였다. Diazoxon 의 AchE 저해도는 표 5에 나타난 바와 같다.

어체 전부에서 추출한 효소는 미꾸리의 경우가 송사리보다 약 4.5배 diazoxon에 민감함을 알 수 있었고, 두 어종의 뇌에서 추출한 효소도 이와 유사하여 미꾸리가 송사리의 경우보다 약 5.1배 더 민감하였다. 그리고 급성 어독성 실험에서 미꾸리가 송사리보다 저항성을 보이는 것으로 관찰된 carbofuran의 AchE 저해도는 기대한 대로 송사리가 더 민감한 것을 확인할 수 있었다.

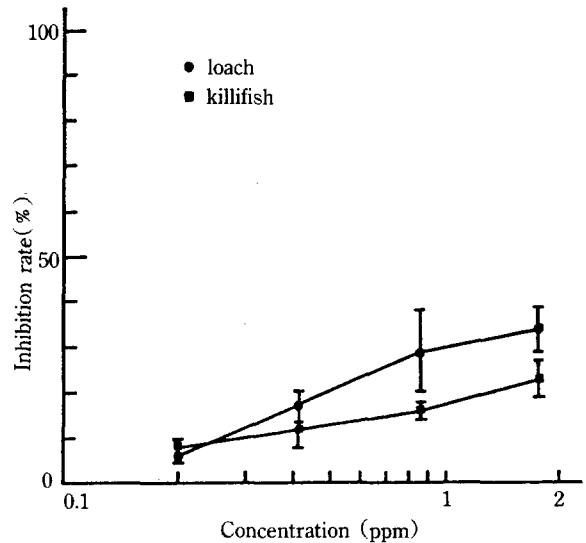


Fig. 1. Acetylcholinesterase inhibition of diazinon to killifish and loach.

4. 급성독성치와 IC50 와의 비교

급성독성치(LC50)와 IC50 값의 비교는 표6에 제시되었다. 먼저 송사리에서의 diazinon과 carbofuran의 급성독성값과 IC50 값을 비교하면 diazinon의 급성독성치가 carbofuran보다 4.7배로 높게 나타나서 송사리가 diazinon에 약간 높은 저항성이 있음을 알 수 있으나 IC50 값은 300배 이상의 크나큰 차이를 보이고 있다. Diazoxon과 carbofuran의 IC50를 비교하면 송사리의 AchE 활성이 diazoxon에 보다는 carbofuran에 저항성이 있는 것으로 나타나서 diazoxon이 diazinon과 carbofuran의 급성독성치의 저항성 차이를 설명하기는 어려운 것으로 추정된다.

미꾸리에서의 급성독성은 diazinon이 carbofuran보다 45배 강한 것으로 나타났으나 IC50 값은 carbofuran이 diazinon보다 20배이상 강한 것으로 나타나 상반된관계를 보였다. 그러나 diazoxon의 IC50 값이 carbofuran의 IC50

Table 5. Concentration of diazoxon and carbofuran required to inhibit 50% acetylcholinesterase activities

Enzyme source	IC ₅₀ ($\times 10^9$) ^a			
	Diazoxon		Carbofuran	
	Killifish	Loach	Killifish	Loach
Whole body	12.1 \pm 10.7 n=6 ^b	2.97 \pm 1.36 n=5	21.8 \pm 8 n=3	73.5 \pm 15 n=3
Brain	5.89 \pm 1.58 n=1 ^c	1.61 \pm 0.54 n=1	-	-

a. IC₅₀ = n mol/min/g at 27°C in 30 min., pH 7.4

b. replicates with different groups of fish from July 1987 to May 1988

c. triplicate analysis with one group of fish

Table 6. Summary of the LC₅₀'s of diazinon, diazoxon, and carbofuran using whole body homogenates of killifish and loach

Chemical	Killifish		Loach	
	LC ₅₀ ^a	IC ₅₀ ^b	LC ₅₀	IC ₅₀
Diazinon	3.91	>6.58 $\times 10^{-6}$	0.27	>9.05 $\times 10^{-6}$
Diazoxon	-	12.1 $\times 10^{-9}$	-	2.97 $\times 10^{-9}$
Carbofuran	0.84	2.2 $\times 10^{-8}$	12.0	7.4 $\times 10^{-8}$

a. 96 hr LC₅₀ value (mg/l)

b. Concentration (M) of chemicals required to inhibit 50% acetylcholinesterase activity at 27°C in 30min, pH 7.4.

값보다 37배 강하게 나타나서 이 diazinon의 대사산물이 diazinon과 carbofuran의 급성독성 차이를 설명하는데 적합한 것으로 생각된다. 따라서 IC₅₀로 부터 LC₅₀를 예상하기 위하여 동일 어종을 사용하여 다른 계통 (유가인계, 카바메이트계 등)의 화합물을 비교하는데는 IC₅₀ 민감도가 지표가 될 수도 있지만 일관성있는 결론을 주지 못하여 부리가 있음을 알 수 있다.

동일 화합물에 대해 어종간의 감수성을 비교하면 diazinon의 경우 미꾸리에서 급성독성이 송사리보다 훨씬 높게 나타나지만 AchE에 대한 IC₅₀은 diazinon 자체로서는 비교가 불가능하고, diazoxon으로 볼 때 송사리의 IC₅₀이 미꾸리의 IC₅₀보다 4배 높아 두 어종의 diazinon에 대한 감수성의 차이를 AchE에 대한 IC₅₀으로 부분적 (14:4)으로 설명할 수 있었다.

Carbofuran에 대한 급성독성에 있어서도 송사리가 미꾸리보다 14배 더 민감하나 IC₅₀은 3.4배정도 민감한 것으로 나타나서 역시 두어종의 급성어독성 차이를 IC₅₀으로서 전적으로 설명할 수는 없었으나 부분적(14:3.4)으로 설명이 가능함을 알 수 있었다.

이렇게 볼때 IC₅₀에 의한 LC₅₀의 예측은 동일 화합물일때 어종간의 급성독성을 예측하기 위한 IC₅₀의 사용은 그 일부는 설명이 가능함이 확인되었으나 전체를 예측하기 위해서는 다른 생화학적인 요인이 가미될 수 있는 방법을 사용하는 연구가 계속되어야 할 것이다. 또한 본 연구에서 두가지 담수 어종과 두 화합물에 한하여 고찰해 보았으므로 앞으로 좀더 다양한 어종과 화합물을 대상으로 적용 가능성을 연구하여 확인하는 것이 필요하다고 생각되며 아울러 AchE 저해도 외의 생화학적 지표들 즉 타호소계, 흡수, 대사, 배설에 대하여도 연관지어 연구해 나가는 것이 필요하리라 생각된다. 특히 diazinon에서 보였듯이 생체내에서 대사작용을 통하여 AchE에 영향을 미치는 화합물에 대하여는 이러한 대사 효소계를 전단계에 도입하는 방법도 IC₅₀에 의한 LC₅₀ 예측 가능성을 높이는 일례가 될 것이다.

요 약

본 연구에서는 diazinon 과 carbofuran의 송사리와 미

꾸리에 대한 선택적 어독성 기작을 규명코자 뇌와 몸체에서 acetylcholinesterase (AChE)를 추출하여 활성을 측정하였다. 또 농약에 의한 효소의 활성저해도(IC50)를 측정하였으며 이를 급성 어독성 실험에서 얻어진 LC50 값과 비교하였는데 그 결과는 다음과 같았다.

송사리의 AChE의 활성은 미꾸리의 활성보다 2배 높았고, diazinon과 carbofuran의 선택적 독성은 diazinon의 대사산물인 diazoxon의 두 어종에 대한 IC50 값이 미꾸리가 송사리보다 4배 낮고, carbofuran의 IC50 값은 송사리가 미꾸리보다 약 3.4배 낮으므로, IC50 값에 의하여 부분적으로는 설명될 수 있었다.

따라서 AChE를 이용하여 유기인계 및 카바메이트계 농약의 독성을 검색하는데 있어 동일농약인 경우 어종간의 감수성을 부분적으로 설명할 수 있기 때문에 농약의 독성을 1차적으로 검색할 수 있는 수단이 될 것으로 사료된다. 그러나 위의 방법이 본격적으로 사용될 수 있기 위해서는 농약의 종류와 어종을 다양화한 실험과 흡수, 체내에서의 대사 등에 관한 연구를 통하여 급성 독성 현상과 AChE의 저해도와와의 관계가 먼저 정리되어야 할 것으로 본다.

참 고 문 헌

1. 강수원 (1977) : 최신 담수양어학, 선진문화사, p. 309
2. 양재철, 신진섭, 이해근, (1986) : 수중농약성분이 어류독성에 미치는 영향시험, 시험연구보고서, 농약연구소, 농촌진흥청, p. 213-221
3. Edwards, R. and Millburn, P. (1985) : *The metabolism and toxicity of insecticides to fish*, In *Insecticide* (Hutson, D.H. and Roberts, T.R. eds.) John Wiley & Sons, Chichester, p. 249-274
4. Albert, A. (1981) : *Selective toxicity, physico-chemical basis of therapy*, Chapman and Hall, London, p. 455
5. Seguchi, K. and Asaka (1981) : Intake and excretion of diazinon in freshwater fishes, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27, 244

6. Fujii, Y. and Asaka, S. (1982) : Metabolism of diazinon and diazoxon in fish liver preparations, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 29, 455
7. 김 균, 김영배, 김용화, 노정구(1987) : 농약 Chlorothalonil과 Command의 수용성 및 증기압, 한국 환경농학회지, 6, 84
8. Wang, C. and Murphy S.D. (1982) : Kinetic analysis of species difference in acetylcholinesterase sensitivity to organophosphate insecticides, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 66, 409
9. Ellman, G. L., Courtney, K.D., Andres, V. Jr. and Featherstone, R. M. (1961) : A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical Pharmacology*. 7, 88
10. Benke, G.M., Cheever, K.L., Mirer, F.E., Murphy, S. D. (1974) : Comparative toxicity, anticholinesterase action and metabolism of methyl parathion and parathion in sunfish and mice, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 28, 97
11. Murty, A.S. (1986) : *Toxicity of pesticides to fish*, Vol II, CRC Press, p. 64-66
12. Rand, G.M. and Petrocelli, S.R. (1985) : *Fundamentals of aquatic toxicology*, Hemisphere Publishing Co., p. 9-13
13. 이성규, 박철원, 노정구 (1984) : 농약의 급성어독성과 처리방법에 따른 독성의 변화, 한국 환경 농학회지, 3, 45
14. Kanazawa, J. (1983) : In vitro and in vivo effects of organophosphorus and carbamate insecticides on brain acetylcholinesterase activity of freshwater fish, Topmouth gudgeon, *Bull. Natl. Inst. Agri. Sci.*, Ser. C 37, 19
15. Coppage, D.L. (1971) : Characterization of fish brain acetylcholinesterase with an automated pH stat for inhibition studies, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6, 304